

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

ALTERAÇÕES RENAIIS E CARDÍACAS DECORRENTES
DO TREINAMENTO DE FORÇA NA HIPERTENSÃO
EXPERIMENTAL: EFEITOS MORFOLÓGICOS E NO
ESTRESSE OXIDATIVO

RODRIGO MIGUEL DOS SANTOS

São Cristóvão
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

ALTERAÇÕES RENAIS E CARDÍACAS DECORRENTES
DO TREINAMENTO DE FORÇA NA HIPERTENSÃO
EXPERIMENTAL: EFEITOS MORFOLÓGICOS E NO
ESTRESSE OXIDATIVO

RODRIGO MIGUEL DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Educação Física da
Universidade Federal de Sergipe como
requisito para obtenção do grau de Mestre
em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Brandão Wichi
Coorientadora: Prof. Dra. Sandra Lauton Santos

São Cristóvão
2016

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

M636a Miguel dos Santos, Rodrigo
Alterações renais e cardíacas decorrentes do treinamento de
força na hipertensão experimental: efeitos morfológicos e no
estresse oxidativo / Rodrigo Miguel dos Santos ; orientador
Rogério Brandão Wichi. – São Cristóvão, 2016.
68 f.: il.

Dissertação (mestrado em Educação Física) – Universidade
Federal de Sergipe, 2016.

1. Musculação. 2. Hipertensão. 3. Stress oxidativo. 4.
Antioxidantes. 5. Hipertensão renovascular. 6. Rato como animal de
laboratório. I. Wichi, Rogério Brandão, orient. II. Título.

CDU 796.015.52

RODRIGO MIGUEL DOS SANTOS

ALTERAÇÕES RENAIS E CARDÍACAS DECORRENTES
DO TREINAMENTO DE FORÇA NA HIPERTENSÃO
EXPERIMENTAL: EFEITOS MORFOLÓGICOS E NO
ESTRESSE OXIDATIVO

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do grau de Mestre em Educação Física.

Aprovada em ____/____/____

1º Examinador: Prof. Dr. Rogério Brandão Wichi

2º Examinador: Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal

3º Examinador: Prof. Dr. Tharciano Luiz Teixeira Braga da Silva

PARECER

.....

.....

.....

.....

.....

.....

RESUMO

A hipertensão arterial é um dos principais fatores de risco associados às morbidades e mortalidade cardiovasculares, causando a morte de milhões de pessoas por ano. Na hipertensão, o estresse oxidativo está aumentado, podendo ser este o motivo ou uma consequência da elevação da pressão arterial. Nos últimos anos o exercício físico tem se mostrado como uma alternativa para a prevenção e o tratamento da hipertensão por reduzir a pressão arterial, assim como tem sido demonstrada a capacidade de o treinamento de força melhorar a defesa antioxidante em normotensos. Desta forma, os objetivos desta dissertação foram: (1) avaliar o efeito de uma sessão de exercício de força de baixa intensidade sobre os indicadores de estresse oxidativo no músculo cardíaco de ratos hipertensos; (2) avaliar os efeitos do treinamento de força sobre a hipertrofia renal e cardíaca induzida pela hipertensão renovascular; (3) avaliar os efeitos do treinamento de força sobre o estresse oxidativo renal em ratos com hipertensão renovascular. Verificamos que o exercício de força é capaz de reduzir os danos oxidativos através do aumento da atividade das enzimas antioxidantes no coração. Estes efeitos são similares no rim quando é realizado o treinamento de força de forma crônica na hipertensão renovascular. Foi possível verificar que o treinamento de força tem efeitos benéficos na hipertensão renovascular e é capaz de reduzir a pressão arterial média e frequência cardíaca, além de reverter a hipertrofia do rim contralateral e do coração.

Palavras-chave: Treinamento resistido; Danos oxidativos; Antioxidantes; Remodelamento renal; Remodelamento cardíaco; Ratos.

ABSTRACT

Hypertension is a leading risk factors associated with cardiovascular morbidity and mortality, killing millions of people every year. And in hypertension oxidative stress is increased and may be the cause or a consequence of elevated blood pressure. In recent years the exercise has been shown to be an alternative for the prevention and treatment of hypertension to lower blood pressure, as has been demonstrated the ability to strength training improve antioxidant defense in normotensive. Thus, the objectives of this work were: (1) to evaluate the effects of a low-intensity resistance exercise session on oxidative stress indicators in cardiac muscle of hypertensive rats; (2) evaluate the effects of strength training on renal and cardiac hypertrophy-induced renovascular hypertension; (3) evaluate the effects of strength training on renal oxidative stress in rats with renovascular hypertension. We verified that the power exercise can reduce oxidative damage by increasing the activity of antioxidant enzymes in the heart. These effects are similar in the kidney when it is performed strength training chronically with moderate intensity in renovascular hypertension. It was possible to verify that strength training has beneficial effects on hypertension and renovascular is able to reduce mean arterial pressure and heart rate, and reverse hypertrophy of the contralateral kidney and heart.

Key words: Resistance training; Oxidative damage; Antioxidants; Kidney remodeling; Cardiac remodeling; Rats.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. OBJETIVO GERAL	5
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
3. REFERÊNCIAS.....	6
4. DESENVOLVIMENTO	12
4.1. CAPÍTULO 1 (Estudo 1).....	13
4.2. CAPÍTULO 2 (Estudo 2).....	15
4.3. CAPÍTULO 3 (Estudo 3).....	41
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
6. LIMITAÇÕES ENFRENTADAS	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Estudo 1

Figura 1. Desenho experimental do estudo.....	17
Figura 2. Efeitos da hipertensão e do exercício de força sobre marcadores de danos oxidativos.....	20
Figura 3. Efeitos da hipertensão e do exercício de força sobre a atividade das enzimas antioxidantes (A) Superóxido dismutase, (B) Catalase e (C) Glutathione peroxidase.....	21

Estudo 2

Figura 1. Valores absolutos do teste de uma repetição máxima	33
Figura 2. Efeitos da hipertensão e do treinamento de força sobre os marcadores de danos oxidativos (A) hidroperóxidos e (B) sulfidrilas totais no rim direito.....	34
Figura 3. Efeitos da hipertensão e do treinamento de força sobre a atividade das enzimas antioxidantes (A) Superóxido dismutase, (B) Catalase e (C) Glutathione peroxidase.....	35

Estudo 3

Figura 1. Efeito do treinamento de força na hipertrofia renal decorrente da hipertensão renovascular	49
Figura 2. Efeito do treinamento de força na hipertrofia cardíaca decorrente da hipertensão renovascular	50

ÍNDICE DE TABELAS

Estudo 1

Tabela 1. Pressão arterial média (PAM), sistólica (PAS) e diastólica (PAD) no período de indução da hipertensão experimental.....	19
--	----

Estudo 2

Tabela 1. Alteração na pressão arterial decorrente da hipertensão renovascular	33
---	----

Estudo 3

Tabela 1. Efeitos do treinamento de força nas variáveis hemodinâmicas na hipertensão renovascular.	48
--	----

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão é um dos principais fatores de risco associados às morbidades cardiovasculares, já que afeta mais de um bilhão de pessoas adultas no mundo, e à mortalidade, causando a morte prematura de, aproximadamente, 9,4 milhões de pessoas por ano (1, 2), tanto em países em desenvolvimento como nos desenvolvidos (3). Também é considerada como um fator de risco independente para acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca e tem sido associada à insuficiência renal crônica (1, 4).

A hipertensão arterial sistêmica pode ter etiologia primária ou secundária, e uma das principais causas da hipertensão secundária é a hipertensão renovascular, que é causada pela estenose da artéria renal, devido à má formação congênita ou devido à obstrução provocada pela aterosclerose (5-8). A oclusão da artéria renal provoca a isquemia do rim, desencadeando a liberação de renina e uma elevação da pressão arterial secundária (5, 6). Com o aumento da renina, é desencadeada maior conversão de angiotensina I em angiotensina II, causando vasoconstrição e grande liberação de aldosterona (9).

A renina é responsável pela conversão do angiotensinogênio em angiotensina I no fígado, que, ao alcançar os pulmões, é convertida pela enzima conversora de angiotensina (ECA) em angiotensina II (9). Deste modo, a elevação da renina circulante desencadeia um aumento na liberação de Ang II, que por sua vez ativa as enzimas NADPH oxidase (10) e xantina oxidase (11). Estas enzimas são responsáveis pela produção do ânion superóxido (O_2^-), uma molécula pró-oxidante altamente reativa, que promove danos oxidativos aos lipídios, proteínas e ao DNA, como é visto na hipertensão renovascular (12). O aumento dos danos oxidativos no rim pode ocasionar o aumento da fibrose do tecido, que provoca a redução da sua função, e, tardiamente, levando à insuficiência do rim que não foi acometido pela estenose (12).

Estas alterações decorrentes da hipertensão renovascular também alteram o funcionamento do mecanismo de regulação da pressão arterial que é mediado pelo óxido nítrico. Este é um dos principais mecanismos responsáveis pela vasodilatação e, assim, redução da pressão arterial (13). Em condições

fisiológicas o NO é produzido nas células endoteliais da parede vascular pelas enzimas NO sintase (NOS) (14), promovendo o relaxamento do músculo liso (13) e controlando a pressão arterial, tanto periféricamente (15) quanto centralmente (16). Porém, na hipertensão, o endotélio se encontra em condições anormais e com baixa disponibilidade de NO, diminuindo o vasorrelaxamento dependente de endotélio (17).

Essa redução na biodisponibilidade de NO pode ocorrer, entre outros motivos, pelas alterações da atividade e expressão das enzimas NOS, responsáveis pela síntese de NO, assim como pelo aumento do estresse oxidativo (18, 19). E na hipertensão renovascular, há ainda um aumento na liberação de renina pelo rim que possui a estenose da artéria renal (20), promovendo um aumento de angiotensina II e, conseqüentemente, aumento do estresse oxidativo. Este aumento do estresse oxidativo desencadeia danos às artérias, levando ao enrijecimento da parede dos vasos, que pode ocasionar a disfunção endotelial (21) e conseqüente aumento da resistência vascular. Além disso, também ocorre danos às células cardíacas, ocasionando, assim, o enrijecimento dos ventrículos através do depósito de colágeno, gerando o remodelamento cardíaco (22).

Este estresse oxidativo é definido como um aumento na geração das espécies reativas de oxigênio (ROS) ou redução das enzimas e sequestradores antioxidantes (23). E na hipertensão renovascular, ocorre tanto o aumento na produção das ROS como a redução das defesas antioxidantes (24, 25). Este aumento das ROS ocorre por diversos mecanismos, sendo um deles pela oxidação do NO a peroxinitrito pelo superóxido (O_2^-) (26). A NADPH oxidase é uma das principais fontes de O_2^- no tecido vascular e cardíaco (23) e tanto sua atividade como sua expressão estão aumentadas na hipertensão (27, 28).

O O_2^- produzido pela NADPH oxidase que é ativada pela angiotensina II induz a produção das ROS na mitocôndria. Essa produção de O_2^- gera um sistema de retroalimentação positiva que aumenta a ativação das NADPH oxidases, gerando um acúmulo de O_2^- e alterando a modulação das respostas vasculares, se tornando em uma segunda fonte de ROS no tecido vascular (29, 30).

Concomitante ao aumento das ROS é vista uma redução da atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD), responsável pela dismutação do O_2^- a peróxido de hidrogênio (H_2O_2), gerando um desequilíbrio entre oxidantes e o mecanismo antioxidante (31, 32). Este desequilíbrio com exacerbado dano oxidativo provoca a deposição de colágeno e de fibroblastos no tecido cardíaco, promovendo o remodelamento do coração (33-35).

Fato interessante foi observado em ratos espontaneamente hipertensos, em que o surgimento das ROS ocorreu anterior à hipertensão (36). Mesmo assim, ainda não está claro se o aumento nos níveis das ROS é uma causa ou uma consequência do aumento da PA (23). Entretanto o tratamento com antioxidantes tem apresentado uma redução na PA de humanos (37) e animais hipertensos (38, 39), além do aumento da vasodilatação (40).

Apesar do grande número de medicamentos anti-hipertensivos e do progresso feito no aumento da eficácia e tolerância destes medicamentos, sabe-se que menos de 40% dos indivíduos tratados com estes fármacos conseguem reduzir a PA sistólica a 140/90 mmHg (41). Desta forma, a combinação de medicamentos pode ser utilizada como alternativa para reduzir estes valores de PA, visto que o prolongamento destes valores elevados de PA pode levar ao remodelamento cardíaco.

Os efeitos protetores do exercício físico contra o desenvolvimento das doenças cardiovasculares já são bem reconhecidos. Assim, o exercício físico tem sido indicado como uma importante estratégia não farmacológica para a prevenção e tratamento da hipertensão (42, 43). Desta forma, aumenta o número de adeptos à prática de exercício físico, devido ao seu efeito hipotensor e cardioprotetor (26, 44, 45).

Os efeitos do exercício aeróbico, natação ou caminhada, na hipertensão já tem sido bem documentado e seu efeito hipotensor foi relacionado ao aumento da capilaridade vascular (46), redução da resistência vascular periférica (47-49), aumento da sensibilidade do receptor barorreflexo (49), aumento da vasodilatação dependente de endotélio (50), aumento da produção de NO (44, 46, 51), aumento da expressão das NOS (44, 48, 51, 52) e o aumento das enzimas antioxidantes (26, 51). Estas alterações promovidas pelo treinamento aeróbico, evitam ainda o

desenvolvimento do remodelamento cardíaco, que poderia progredir para a insuficiência cardíaca.

Atualmente, tem aumentado o interesse da comunidade científica pelos efeitos do exercício de força sobre a hipertensão arterial. Apesar disso, os resultados têm sido bastante controversos devido à grande quantidade de variáveis que devem ser controladas durante o treinamento. Mesmo assim, alguns estudos têm apresentado uma redução da PA após uma sessão de exercício (53) e após o treinamento de força em humanos (54, 55). Já em modelos experimentais, Araujo et al. (56) conseguiram controlar o aumento da PA e identificaram um aumento na reatividade vascular dependente de NO. Assim como foi encontrado por Faria et al. (57) após a realização de uma sessão de exercício de força.

Dentre os prováveis mecanismos envolvidos na redução da PA está o relacionado ao aumento das enzimas antioxidantes, como mencionado anteriormente (23). Mas alguns estudos têm demonstrado que durante a prática de exercícios físicos há um aumento na produção de ROS, com consequente aumento na atividade das enzimas antioxidantes nos vasos, coração e músculos (58-60). Enquanto que outros trabalhos demonstraram redução dos marcadores de danos oxidativos e aumento da atividade das enzimas antioxidantes (60-62). E diante dos resultados conflitantes apresentados na literatura, são necessários mais estudos visando aprofundar o conhecimento sobre as alterações *redox* decorrentes do exercício de força na hipertensão.

Além disso, o exercício físico também tem sido indicado para melhorar a função cardiovascular em pacientes com insuficiência cardíaca e outras doenças decorrentes da disfunção cardíaca (63). O que comprova a necessidade de incluir o exercício de força como tratamento da hipertensão, visando impedir esta disfunção cardíaca. Já que o treinamento de força é capaz de promover remodelamento com a melhora da função cardíaca (64).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do exercício e do treinamento de força sobre os tecidos renal e cardíaco de ratos com hipertensão experimental.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar o efeito de uma sessão de exercício de força de baixa intensidade sobre os indicadores de estresse oxidativo no músculo cardíaco de ratos hipertensos (Estudo 1);
2. Avaliar os efeitos do treinamento de força sobre o estresse oxidativo renal em ratos com hipertensão renovascular (Estudo 2);
3. Avaliar os efeitos do treinamento de força sobre as hipertrofias renal e cardíaca induzida pela hipertensão renovascular (Estudo 3).

3. REFERÊNCIAS

1. World Health Organization (WHO). Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva: World Health Organization; 2014.
2. Lim S, Choi HJ, Shin H, Khang AR, Kang SM, Yoon JW, et al. Subclinical atherosclerosis in a community-based elderly cohort: the Korean Longitudinal Study on Health and Aging. *Int J Cardiol.* 2012;155(1):126-33.
3. Wang W, Ma L, Zhang Y, Deng Q, Liu M, Liu L. The combination of amlodipine and angiotensin receptor blocker or diuretics in high-risk hypertensive patients: rationale, design and baseline characteristics. *J Hum Hypertens.* 2011;25(4):271-7.
4. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, Simone G, Ferguson TB, Flegal K, et al. Heart disease and stroke statistics - 2009 update: a report from the American Heart Association statistics committee and stroke statistics subcommittee. *Circulation.* 2009;119(3):e21-181.
5. Cangiano JL, Rodriguez-Sargent C, Martinez-Maldonado M. Effects of antihypertensive treatment on systolic blood pressure and renin in experimental hypertension in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1979;208(2):310-3.
6. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on Experimental Hypertension: I. The Production of Persistent Elevation of Systolic Blood Pressure by Means of Renal Ischemia. *J Exp Med.* 1934;59(3):347-79.
7. Kalra PA, Guo H, Kausz AT, Gilbertson DT, Liu J, Chen SC, et al. Atherosclerotic renovascular disease in United States patients aged 67 years or older: risk factors, revascularization, and prognosis. *Kidney Int.* 2005;68(1):293-301.
8. Maia RC, Sousa LE, Santos RA, Silva ME, Lima WG, Campagnole-Santos MJ, et al. Time-course effects of aerobic exercise training on cardiovascular and renal parameters in 2K1C renovascular hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res.* 2015;48(11):1010-22.
9. Fernandes T, Soci UP, Oliveira EM. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. *Braz J Med Biol Res.* 2011;44(9):836-47.

10. Seshiah PN, Weber DS, Rocic P, Valppu L, Taniyama Y, Griending KK. Angiotensin II stimulation of NAD(P)H oxidase activity: upstream mediators. *Circ Res*. 2002;91(5):406-13.
11. Mervaala EM, Cheng ZJ, Tikkanen I, Lapatto R, Nurminen K, Vapaatalo H, et al. Endothelial dysfunction and xanthine oxidoreductase activity in rats with human renin and angiotensinogen genes. *Hypertension*. 2001;37(2 Pt 2):414-8.
12. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Matsuura H, Oshima T, Chayama K. Endothelial function and oxidative stress in renovascular hypertension. *N Engl J Med*. 2002;346(25):1954-62.
13. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J*. 1989;3(9):2007-18.
14. Ignarro LJ. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol*. 2002;53(4 Pt 1):503-14.
15. Rees DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(9):3375-8.
16. Dias AC, Vitela M, Colombari E, Mifflin SW. Nitric oxide modulation of glutamatergic, baroreflex, and cardiopulmonary transmission in the nucleus of the solitary tract. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;288(1):H256-62.
17. Litterio MC, Jaggars G, Sagdicoglu Celep G, Adamo AM, Costa MA, Oteiza PI, et al. Blood pressure-lowering effect of dietary (-)-epicatechin administration in L-NAME-treated rats is associated with restored nitric oxide levels. *Free Radic Biol Med*. 2012;53(10):1894-902.
18. Feletou M, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291(3):H985-1002.
19. Ciocoiu M, Badescu L, Miron A, Badescu M. The involvement of a polyphenol-rich extract of black chokeberry in oxidative stress on experimental arterial hypertension. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:912769.
20. Vaughan ED, Jr., Buhler FR, Laragh JH, Sealey JE, Baer L, Bard RH. Renovascular hypertension: renin measurements to indicate hypersecretion and contralateral suppression, estimate renal plasma flow, and score for surgical curability. *Am J Med*. 1973;55(3):402-14.

21. Rochette L, Lorin J, Zeller M, Guillard JC, Lorgis L, Cottin Y, et al. Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: possible therapeutic targets? *Pharmacol Ther.* 2013;140(3):239-57.
22. Worou ME, Belmokhtar K, Bonnet P, Vourc'h P, Machet MC, Khamis G, et al. Hemin decreases cardiac oxidative stress and fibrosis in a rat model of systemic hypertension via PI3K/Akt signalling. *Cardiovasc Res.* 2011;91(2):320-9.
23. Briones AM, Touyz RM. Oxidative stress and hypertension: current concepts. *Curr Hypertens Rep.* 2010;12(2):135-42.
24. Lerman LO, Nath KA, Rodriguez-Portel M, Krier JD, Schwartz RS, Napoli C, et al. Increased oxidative stress in experimental renovascular hypertension. *Hypertension.* 2001;37(2 Pt 2):541-6.
25. Oliveira-Sales EB, Dugaich AP, Carillo BA, Abreu NP, Boim MA, Martins PJ, et al. Oxidative stress contributes to renovascular hypertension. *Am J Hypertens.* 2008;21(1):98-104.
26. Cardoso AM, Martins CC, Fiorin FS, Schmatz R, Abdalla FH, Gutierrez J, et al. Physical training prevents oxidative stress in L-NAME-induced hypertension rats. *Cell Biochem Funct.* 2013;31(2):136-51.
27. Brandes RP, Weissmann N, Schroder K. NADPH oxidases in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med.* 2010;49(5):687-706.
28. Drummond GR, Selemidis S, Griending KK, Sobey CG. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov.* 2011;10(6):453-71.
29. Dikalova AE, Bikineyeva AT, Budzyn K, Nazarewicz RR, McCann L, Lewis W, et al. Therapeutic targeting of mitochondrial superoxide in hypertension. *Circ Res.* 2010;107(1):106-16.
30. Dikalov SI, Nazarewicz RR. Angiotensin II-induced production of mitochondrial reactive oxygen species: potential mechanisms and relevance for cardiovascular disease. *Antioxid Redox Signal.* 2013;19(10):1085-94.
31. Beswick RA, Zhang H, Marable D, Catravas JD, Hill WD, Webb RC. Long-term antioxidant administration attenuates mineralocorticoid hypertension and renal inflammatory response. *Hypertension.* 2001;37(2 Pt 2):781-6.

32. Thakali KM, Lau Y, Fink GD, Galligan JJ, Chen AF, Watts SW. Mechanisms of hypertension induced by nitric oxide (NO) deficiency: focus on venous function. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006;47(6):742-50.
33. Akki A, Zhang M, Murdoch C, Brewer A, Shah AM. NADPH oxidase signaling and cardiac myocyte function. *J Mol Cell Cardiol*. 2009;47(1):15-22.
34. Siwik DA, Pagano PJ, Colucci WS. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;280(1):C53-60.
35. Murrell GA, Francis MJ, Bromley L. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochem J*. 1990;265(3):659-65.
36. Nistala R, Whaley-Connell A, Sowers JR. Redox control of renal function and hypertension. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(12):2047-89.
37. Bogdanski P, Suliburska J, Szulinska M, Stepień M, Pupek-Musialik D, Jablecka A. Green tea extract reduces blood pressure, inflammatory biomarkers, and oxidative stress and improves parameters associated with insulin resistance in obese, hypertensive patients. *Nutr Res*. 2012;32(6):421-7.
38. Mihailovic-Stanojevic N, Belšcak-Cvitanovic A, Grujić-Milanovic J, Ivanov M, Jovovic D, Bugarski D, et al. Antioxidant and antihypertensive activity of extract from *Thymus serpyllum* L. in experimental hypertension. *Plant Foods Hum Nutr*. 2013;68(3):235-40.
39. Chen X, Touyz RM, Park JB, Schiffrin EL. Antioxidant effects of vitamins C and E are associated with altered activation of vascular NADPH oxidase and superoxide dismutase in stroke-prone SHR. *Hypertension*. 2001;38(3 Pt 2):606-11.
40. Fu JY, Qian LB, Zhu LG, Liang HT, Tan YN, Lu HT, et al. Betulinic acid ameliorates endothelium-dependent relaxation in L-NAME-induced hypertensive rats by reducing oxidative stress. *Eur J Pharm Sci*. 2011;44(3):385-91.
41. Lloyd-Jones DM, Evans JC, Levy D. Hypertension in adults across the age spectrum: current outcomes and control in the community. *JAMA*. 2005;294(4):466-72.
42. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo Jr. JL, et al. Seventh report of the joint national committee on prevention, detection,

- evaluation, and treatment of high blood pressure. *Hypertension*. 2003;42(6):1206-52.
43. Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, Farquhar WB, Kelley GA, Ray CA, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36(3):533-53.
44. Kuru O, Senturk UK, Demir N, Yesilkaya A, Erguler G, Erkilic M. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. *Eur J Appl Physiol*. 2002;87(2):134-40.
45. Farah C, Kleindienst A, Bolea G, Meyer G, Gayraud S, Geny B, et al. Exercise-induced cardioprotection: a role for eNOS uncoupling and NO metabolites. *Basic Res Cardiol*. 2013;108(6):389.
46. Husain K. Physical conditioning modulates rat cardiac vascular endothelial growth factor gene expression in nitric oxide-deficient hypertension. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;320(4):1169-74.
47. Arakawa K. Hypertension and exercise. *Clin Exp Hypertens*. 1993;15(6):1171-9.
48. Kuru O, Senturk UK, Kocer G, Ozdem S, Baskurt OK, Cetin A, et al. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic NOS inhibition. *J Appl Physiol* (1985). 2009;107(3):896-902.
49. Brum PC, Da Silva GJ, Moreira ED, Ida F, Negrao CE, Krieger EM. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. *Hypertension*. 2000;36(6):1018-22.
50. Jasperse JL, Laughlin MH. Endothelial function and exercise training: evidence from studies using animal models. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(3):445-54.
51. Husain K, Hazelrigg SR. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. *Biochim Biophys Acta*. 2002;1587(1):75-82.
52. Spier SA, Delp MD, Meininger CJ, Donato AJ, Ramsey MW, Muller-Delp JM. Effects of ageing and exercise training on endothelium-dependent vasodilatation and structure of rat skeletal muscle arterioles. *J Physiol*. 2004;556(Pt 3):947-58.
53. Cunha RM, Jardim PC. Subacute blood pressure behavior in elderly hypertensive women after resistance exercise session. *J Sports Med Phys Fitness*. 2012;52(2):175-80.

54. Harris KA, Holly RG. Physiological response to circuit weight training in borderline hypertensive subjects. *Med Sci Sports Exerc.* 1987;19(3):246-52.
55. Moraes MR, Bacurau RF, Casarini DE, Jara ZP, Ronchi FA, Almeida SS, et al. Chronic conventional resistance exercise reduces blood pressure in stage 1 hypertensive men. *J Strength Cond Res.* 2012;26(4):1122-9.
56. Araujo AJ, Santos AC, Souza KS, Aires MB, Santana-Filho VJ, Fioretto ET, et al. Resistance training controls arterial blood pressure in rats with L-NAME-induced hypertension. *Arq Bras Cardiol.* 2013;100(4):339-46.
57. Faria TO, Targueta GP, Angeli JK, Almeida EA, Stefanon I, Vassallo DV, et al. Acute resistance exercise reduces blood pressure and vascular reactivity, and increases endothelium-dependent relaxation in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Appl Physiol.* 2010;110(2):359-66.
58. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exerc.* 1999;31(7):987-97.
59. Hoffman JR, Im J, Kang J, Maresh CM, Kraemer WJ, French D, et al. Comparison of low- and high-intensity resistance exercise on lipid peroxidation: role of muscle oxygenation. *J Strength Cond Res.* 2007;21(1):118-22.
60. McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride T, Sebastianelli W. Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc.* 1998;30(1):67-72.
61. Çakir-Atabek H, Ozdemir F, Colak R. Oxidative stress and antioxidant responses to progressive resistance exercise intensity in trained and untrained males. *Biol Sport.* 2015;32(4):321-8.
62. Ramel A, Wagner KH, Elmadfa I. Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. *Eur J Nutr.* 2004;43(1):2-6.
63. Humphrey R, Bartels MN. Exercise, cardiovascular disease, and chronic heart failure. *Arch Phys Med Rehabil.* 2001;82(3 Suppl 1):S76-81.
64. Barauna VG, Rosa KT, Irigoyen MC, Oliveira EM. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. *Clin Med Res.* 2007;5(2):114-20.

4. DESENVOLVIMENTO

A presente dissertação aborda os efeitos do exercício de força sobre a hipertensão. Foram elaborados três artigos, sendo que o primeiro (Estudo 1) avaliou o efeito de uma sessão de exercício de força de baixa intensidade sobre os indicadores de estresse oxidativo no músculo cardíaco. O segundo artigo (Estudo 2) avaliou os efeitos do treinamento de força por 12 semanas sobre o estresse oxidativo renal. E o terceiro artigo (Estudo 3) verificou os efeitos do treinamento de força sobre as hipertrofias renal e cardíaca induzida pela hipertensão.

4.1. CAPÍTULO 1 (Estudo 1)

(Formatação conforme normas para submissão de artigos do *Journal of Physiology and Biochemistry*)

UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO DE FORÇA DE BAIXA INTENSIDADE REDUZ O ESTRESSE OXIDATIVO CARDÍACO NA HIPERTENSÃO

Rodrigo Miguel-dos-Santos; Tharciano Luiz Teixeira Braga da Silva; Marzo Edir da Silva Grigoletto; Márcio Roberto Viana dos Santos; Rogério Brandão Wichi; Sandra Lauton-Santos.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de uma sessão de exercício de força de baixa intensidade sobre os indicadores de estresse oxidativo no músculo cardíaco de ratos hipertensos. Trinta ratos Wistar foram divididos em três grupos: *sham*, hipertenso (H) e hipertenso exercitado (HE). Os animais dos grupos H e HE ingeriram L-NAME (20 mg/kg) na água de beber para induzir à hipertensão durante sete dias e no oitavo dia os animais do grupo HE realizam uma sessão de exercício de força de três séries de 10 repetições, com intervalos de três minutos entre as séries e a 40% de 1RM. Imediatamente após a última série os animais foram eutanasiados e o coração foi removido para avaliação dos danos oxidativos, através da dosagem de malondialdeído, hidroperóxidos e grupamentos sulfidrílicos, e da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase. Os resultados indicam que após o exercício de força houve redução dos marcadores de danos oxidativos malondialdeído, hidroperóxidos e sulfidrilas totais, além do aumento da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase. É possível concluir que uma sessão de exercício de força com baixa intensidade aumento a atividade das enzimas antioxidantes no coração. Os ajustes enzimáticos observados após uma sessão de exercício de força parecem benéficos para a redução dos danos oxidativos ao coração na hipertensão.

Palavras-chave: Exercício resistido; Status redox; Danos oxidativos; Enzimas antioxidantes; Ratos.

INTRODUÇÃO

É descrito na literatura que na hipertensão arterial a produção das espécies reativas de oxigênio (ROS) está aumentada e isto pode causar distúrbios cardiovasculares [1, 2]. Contudo, ainda não está claro se o aumento dos níveis das ROS é uma causa ou uma consequência do aumento da pressão arterial (PA) [3]. Já que em ratos espontaneamente hipertensos, o aumento das ROS ocorre anterior ao desenvolvimento da hipertensão [4]. As ROS são metabólitos de oxigênio que possuem alta capacidade de reação com outras moléculas celulares, tais como os ácidos graxos poli-insaturados e as proteínas da membrana celular, além de outros componentes celulares [5], gerando danos oxidativos através desta reação. Como mecanismo de defesa as células possuem um sistema antioxidante, que atua impedindo a reação das ROS com os componentes celulares.

Uma sessão de exercício de força tem mostrado ser eficiente em reduzir os danos oxidativos [5] e também é capaz de aumentar a atividade das enzimas antioxidantes [6] em humanos sem hipertensão. Além disso, existem relatos na literatura indicando os efeitos benéficos do exercício de força, através do aumento da vasodilatação [7, 8] e da hipotensão pós-exercício [9], além da melhora na defesa antioxidante [5, 10-13]. Até o presente momento são desconhecidas as alterações no *status* redox do tecido cardíaco após uma sessão de exercício de força na hipertensão.

Neste contexto, é importante elucidar os efeitos do exercício de força sobre o estresse oxidativo na hipertensão, afim de aumentar a compreensão dos mecanismos envolvidos no efeito cardioprotetor do treinamento de força. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de uma sessão de exercício de força de baixa intensidade sobre os indicadores de estresse oxidativo no músculo cardíaco de ratos hipertensos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra

Foram utilizados 30 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), com 250 a 300 g de massa corporal e, aproximadamente, três meses de idade. Os animais foram mantidos em sala com temperatura controlada ($24 \pm 2^{\circ}\text{C}$), respeitando o ciclo claro/escuro (12 h) e com livre acesso à água filtrada e ração padrão (Labina, Purina®). Os animais foram alocados aleatoriamente em um dos três grupos experimentais: *sham* (n=10), hipertenso (n=10) e hipertenso exercitado (n=10).

Todos os animais foram obtidos do biotério central da Universidade Federal de Sergipe (UFS) e mantidos em gaiolas coletivas (cinco animais por gaiola). Este estudo foi previamente aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com animais da UFS (protocolo #32/2013).

Indução da hipertensão e avaliação da pressão arterial

Antes de iniciar o protocolo de indução da hipertensão experimental, foi feita a avaliação da PA sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) pelo método não invasivo (*tail cuff method*) em todos os animais, estando estes acordados (LETICA, LE5002, Barcelona, Espanha). Os animais dos grupos H e HE foram induzidos à hipertensão experimental pela administração de N^ω-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), inibidor das enzimas sintases do óxido nítrico. A administração do L-NAME foi feita através da via oral (gavage) diariamente durante sete dias com uma dose de 20 mg/kg [7, 14]. Durante este período os animais do grupo *sham* receberam água destilada através da via oral. Ao final do protocolo de indução, previamente à realização da sessão de exercício de força, a PA de todos os grupos foi aferida novamente para constatação da hipertensão. Foram considerados hipertensos os animais que apresentaram alteração na PAM (>125 mmHg). Para o ajuste diário da dose de L-NAME administrado, a massa corporal dos animais foi avaliada diariamente.

Protocolo de exercício

Os animais do grupo HE realizaram uma sessão de exercício de força seguindo o modelo descrito por Tamaki, Uchiyama e Nakano [15]. Foi aplicado

um estímulo elétrico (20 V; duração de 0,3 s; intervalos de 3 s) na cauda dos animais através de um eletrodo de superfície para a realização do movimento de agachamento [16, 17]. Previamente à sessão de exercício, os animais dos grupos H e HE foram adaptados ao aparelho por três dias e, no dia seguinte, foi realizado um teste para determinar a força máxima dos animais, desempenhado em uma repetição máxima (1RM). Vinte e quatro horas após este teste, apenas os animais do grupo HE foram submetidos ao protocolo de exercício de 10 séries de 10 repetições, com intervalos de três minutos entre as séries e intensidade de 40% de 1RM [7]. Os animais do grupo H também receberam o estímulo elétrico da mesma forma que o grupo HE, porém sem levantar carga adicional, para mimetizar o estresse gerado nos animais do grupo HE pelo estímulo elétrico.

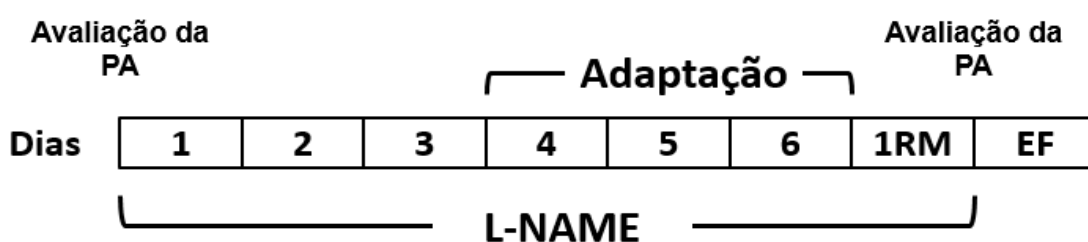


Figura 1. Desenho experimental do estudo.

1RM: teste de 1 repetição máxima, EF: exercício de força.

Imediatamente após o término da última série do protocolo de exercício de força, os animais foram eutanasiados e os corações foram removidos para a realização dos ensaios, sendo desprezado o tecido adiposo cardíaco.

Danos oxidativos ao tecido cardíaco

Para determinar os danos oxidativos aos lipídios, no tecido cardíaco, foram mensurados os produtos da lipoperoxidação, através da técnica de oxidação do xilenol *orange*, na qual ocorre a oxidação de íons ferroso (Fe^{2+}) a íons férrico (Fe^{3+}) sob condições ácidas, pelos hidroperóxidos lipídicos [18]. Também foram identificados os danos oxidativos aos lipídios pela medida das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico [19].

Também foi feita a medida de grupamentos sulfidrilas, que são estruturas associadas a proteínas, sendo susceptíveis a dano oxidativo. Portanto, através da

sua quantificação é possível identificar quanto o tecido sofreu danos. A determinação dos grupamentos sulfidrilas foi realizada conforme descrito por Faure e Lafond [20], através da reação entre 5'5-ditio-bis-2-ácido nitrobenzoico (DTNB) com a sulfidrilas livre da cadeia lateral da cisteína.

Atividade das enzimas antioxidantes

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada pela capacidade da enzima tecidual em dismutar os ânions superóxidos derivados da auto-oxidação do pirogalol e pela reação destes reduzindo o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) e formando os cristais de formazan [21].

A atividade da catalase (CAT) foi determinada pela velocidade de degradação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) segundo protocolo padrão descrito previamente por Nelson e Kiesow [22]. A atividade da glutathione peroxidase (GPx) foi avaliada através da oxidação do NADPH, como descrito por Paglia e Valentine [23].

Determinação da concentração de proteína nas amostras

A determinação da concentração de proteínas, nos ensaios realizados, foi feita pela técnica de Lowry *et al.* [24], quantificando as concentrações de proteínas nas amostras através da comparação com uma curva padrão feita com albumina do soro bovino em diversas concentrações.

Análise estatística

Os valores das medidas obtidas foram representados como média \pm erro padrão da média (EPM). A comparação entre os valores médios dos diferentes grupos para as variáveis da PA foi realizada pela análise de variância (ANOVA) de duas vias. Já para a comparação dos resultados dos danos oxidativos e atividade das enzimas antioxidantes foram realizadas através da ANOVA de uma via. Para todas as situações foi utilizado o pós-teste de Bonferroni. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram medidas as variáveis da PA antes e após sete dias de indução à hipertensão pela ingestão de L-NAME, no período prévio à realização da sessão de exercício (Tabela 1). Foi constatado um aumento da PAM de 19% no grupo hipertenso ($p<0,001$) e 26% no grupo exercitado ($p<0,001$) quando comparados aos seus respectivos momentos pré e pós do grupo *Sham*. Já a medida da PAS mostrou aumento de 11% e 15% entre os seus momentos pré e pós nos grupos hipertenso ($p<0,001$) e exercitado ($p<0,001$), respectivamente, e quando comparados ao pós do *Sham*. Enquanto que a PAD apresentou um acréscimo entre os momentos pré e ao pós de 26% nos animais hipertensos ($p<0,001$) e de 33% nos hipertensos exercitados ($p<0,001$) após este período de indução, e em relação ao pós do *Sham*.

Tabela 1. Pressão arterial média (PAM), sistólica (PAS) e diastólica (PAD) no período de indução da hipertensão experimental.

	PAM (mmHg)		PAS (mmHg)		PAD (mmHg)	
	INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL
Sham	105±2,2	101±2,5	128±1,9	125±1,4	94±2,5	90±2,0
H	106±1,9	127±2,3* [#]	126±1,5	140±1,9* [#]	96±2,1	121±2,3* [#]
HE	103±2,1	130±1,7* [#]	124±1,6	143±2,0* [#]	93±2,3	124±1,9* [#]

Os dados são apresentados como média ± E.P.M. ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo pós teste de Bonferroni. * $p<0,001$ em relação ao período inicial; [#] $p<0,001$ em relação ao período final do grupo *Sham*. H: Hipertenso; HE: Hipertenso exercitado.

Ao comparar os danos oxidativos gerados na hipertensão aos lipídios do tecido cardíaco, foi verificado aumento na concentração de hidroperóxidos lipídicos ($2,88 \pm 0,55 \mu\text{mol/L}$; $p<0,05$, figura 2A) e de malondialdeído ($8,11 \pm 0,34 \text{ nmol/mg}$; $p<0,05$, figura 2B) em relação aos animais do grupo *Sham* ($1,74 \pm 0,13 \mu\text{mol/L}$; $5,93 \pm 0,45 \text{ nmol/mg}$, valores encontrados nos respectivos testes). Entretanto, após a realização de uma sessão de exercício de força de baixa intensidade, os animais hipertensos exercitados apresentaram menores valores

dos marcadores de danos oxidativos ($1,69 \pm 0,12 \mu\text{mol/L}$; $6,04 \pm 0,41 \text{ nmol/mg}$; $p < 0,05$; figura 2A-B).

Também foi encontrado menor quantidade de grupamentos sulfidrílicos totais nos animais hipertensos ($13,61 \pm 1,35 \text{ nmol/mg}$; $p < 0,05$; figura 2C), comparado aos animais *Sham* ($49,64 \pm 5,37 \text{ nmol/mg}$; figura 2C). Já os animais hipertensos exercitados, apresentaram maior quantidade de grupamentos sulfidrílicos totais ($29,93 \pm 2,92 \text{ nmol/mg}$; $p < 0,05$; figura 2C) comparado aos hipertensos, mas com quantidades menores comparado aos *Sham*.

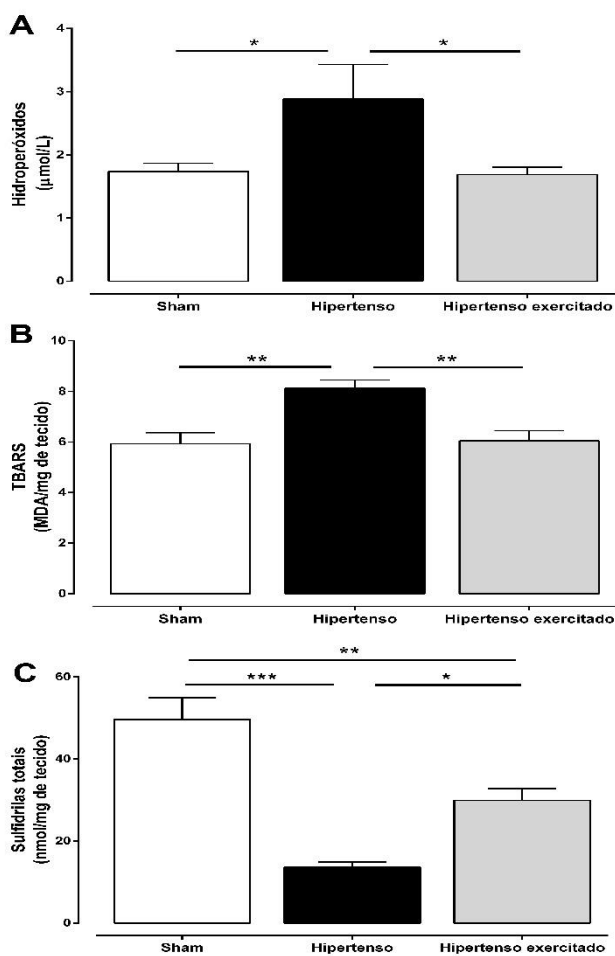


Figura 2. Efeitos da hipertensão e do exercício de força sobre marcadores de danos oxidativos. ANOVA de uma via seguido pelo pós teste de Bonferroni. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Foram também avaliadas as atividades das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx no músculo cardíaco (Figura 3). Os animais hipertensos exercitados apresentaram aumento da atividade da SOD ($0,050 \pm 0,002 \text{ U/mg}$; $p < 0,05$, figura

3A) em relação aos animais do grupo *Sham* ($0,038 \pm 0,002$ U/mg, painel A) e hipertenso ($0,039 \pm 0,002$ U/mg, figura 3A). Pôde ser visto, também, que apenas os animais submetidos ao exercício de força ($0,014 \pm 0,0010$ $\Delta E/\text{min}^{-1}/\text{mg}$; $p < 0,05$, figura 3B) tiveram aumento na atividade da CAT, em comparação aos *Sham* ($0,005 \pm 0,0004$ $\Delta E/\text{min}^{-1}/\text{mg}$, painel B) e aos hipertensos ($0,007 \pm 0,0011$ $\Delta E/\text{min}^{-1}/\text{mg}$, figura 3A).

Além disso, os animais do grupo que realizou uma sessão de exercício de força, apresentaram aumento na atividade da GPx ($6,23 \pm 1,24$ nmol de NADPH/min/mg; $p < 0,05$, figura 3C) tanto em relação aos *Sham* ($0,98 \pm 0,09$ nmol de NADPH/min/mg, figura 3C) como aos hipertensos ($1,37 \pm 0,03$ nmol de NADPH/min/mg, figura 3C).

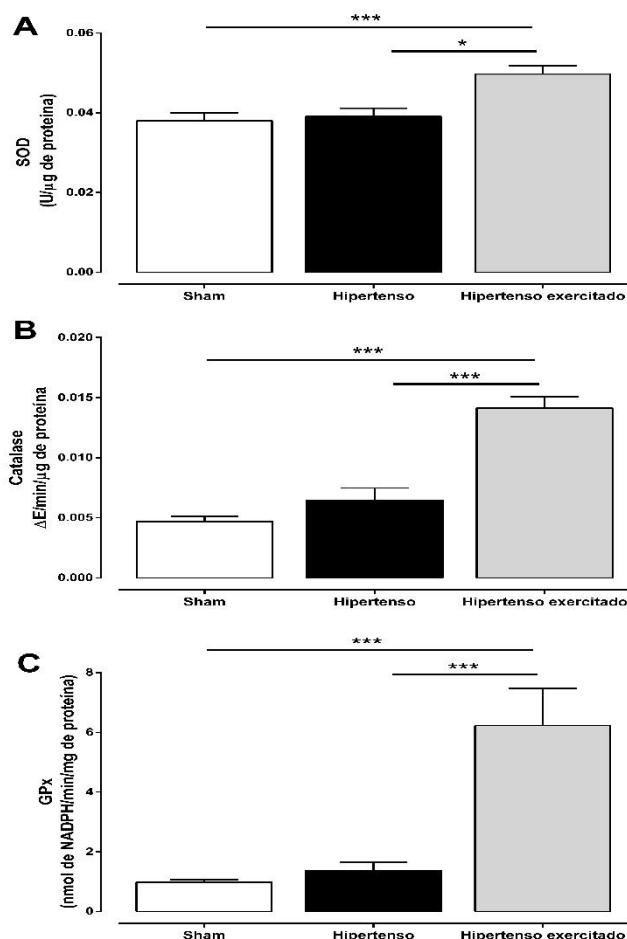


Figura 3. Efeitos da hipertensão e do exercício de força sobre a atividade das enzimas antioxidantes (A) Superóxido dismutase, (B) Catalase e (C) Glutathione peroxidase. ANOVA de uma via seguido pelo pós teste de Bonferroni. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou os efeitos do exercício de força sobre os parâmetros de estresse oxidativo no tecido cardíaco na hipertensão experimental. Os principais achados foram que a realização de uma sessão de exercício de força promoveu o aumento da atividade das enzimas SOD, CAT e GPx, reduzindo os danos oxidativos em um modelo de hipertensão experimental provocado pela inibição das enzimas sintases do óxido nítrico.

Como já havia sido observado em estudos prévios [7, 14], a administração de 20 mg/kg de L-NAME durante sete dias provocou o aumento da PA. Possivelmente devido à redução da capacidade de relaxamento do músculo liso vascular, como foi demonstrado por Silva *et al.* [7]. Que é acompanhada pela vasoconstrição desencadeada pelo tônus simpático vista por Biancardi *et al.* [14]. Estas alterações provocam o aumento da PA, como visto no presente trabalho, confirmando a eficiência do modelo de hipertensão experimental.

O estresse oxidativo tem ganhado atenção como um dos principais mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da hipertensão, pois tem sido demonstrado na hipertensão experimental o aumento da produção de ROS [2], redução do óxido nítrico e redução da biodisponibilidade das enzimas antioxidantes [1]. Este aumento na produção das ROS pode ocorrer por meio de diversos mecanismos, tais como pela ativação das enzimas xantina oxidase e NADPH oxidase, bem como pela cadeia respiratória mitocondrial [3].

Sheffer *et al.* [11] observaram um aumento na produção de superóxido, promovido pelo treinamento de força em animais saudáveis, dependente da intensidade aplicada. Enquanto que o treinamento de baixa intensidade, que é realizado para o desenvolvimento de resistência muscular, como foi realizado no presente trabalho, não aumentou a produção do superóxido.

Após a realização de uma sessão de exercício de força houve redução nos danos oxidativos aos lipídios no tecido cardíaco dos animais com hipertensão, com a redução da quantidade de hidroperóxidos e malondialdeído. Assim como já foi visto anteriormente por Çakir-Atabek *et al.* [5], que não encontraram alterações destes marcadores de danos oxidativos presentes no sangue de sujeitos

fisicamente imediatamente após a realização do exercício de força de intensidade moderada e alta, em protocolo de exercício que envolviam os músculos de membros superiores e inferiores. Diferentemente do estudo citado anteriormente, no presente estudo a amostra foi composta por animais e que estavam em um quadro de hipertensão experimental.

Os hidroperóxidos lipídicos são os produtos primários da peroxidação lipídica [25], enquanto que o malondialdeído é um produto secundário e final do processo de geração de danos aos lipídios [26]. Foram encontradas quantidades menores destes marcadores no coração dos animais hipertensos que fizeram o exercício de força.

Os grupamentos sulfidrílicos são grupos tióis que tem papel importante no mecanismo de sinalização celular regulado pelo estresse oxidativo, sendo, então, importante para o sistema de defesa antioxidante [27]. A oxidação de grupamentos sulfidrílicos é um processo reversível que atua como um regulador sensível ao estresse oxidativo, pois o processo de oxidação-redução de grupos tióis da cadeia de cisteína dentro de proteínas chave, controlam a dinâmica da expressão de genes sensíveis ao estresse oxidativo [11, 27]. Isto demonstra a importância do exercício de força em impedir a redução nos grupamentos sulfidrílicos provocada pela hipertensão.

Além da redução dos hidroperóxidos e do malondialdeído, também encontramos maior quantidade de grupamentos sulfidrílicos nos ventrículos dos animais hipertensos após a realização do exercício. Outros trabalhos avaliaram as alterações dos marcadores de danos oxidativos no sangue de homens normotensos treinados e não treinados que realizaram uma sessão de exercício de força em circuito de membros superiores e inferiores ou por meio de 10 exercícios, e intensidade de 75% 1RM [28], ou com oito exercício e três séries de 10RM [29]. Ambas intervenções não apresentaram mudanças na quantidade de malondialdeído presentes no sangue [28, 29], nem nas concentrações plasmáticas dos antioxidantes não enzimáticos α -tocoferol, γ -tocoferol, β -caroteno, licopeno e ácido ascórbico [28].

A SOD é uma das enzimas antioxidantes endógenas que fazem parte deste sistema de defesa antioxidante e é a primeira linha de defesa contra o superóxido. Já a CAT e a GPx, enzimas que tem a mesma função, diferindo

apenas de sua localização, constituem a segunda linha de defesa antioxidante, protegendo contra o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e também fazem parte do sistema de defesa antioxidante mencionado anteriormente [30].

Os resultados do presente estudo mostraram que uma sessão do exercício de força aumentou a atividade das enzimas SOD, CAT e GPx, mantendo o equilíbrio do estado redox no tecido cardíaco dos animais hipertensos, possivelmente através de um mecanismo compensatório ao aumento das ROS, como foi descrito por outros trabalhos [11, 31, 32], em que com o aumento da produção de ROS as enzimas passam a ficar mais ativas, impedindo a geração de danos.

CONCLUSÃO

Foi possível constatar, a partir deste estudo, que a realização de uma sessão de exercício de força de baixa intensidade é capaz de reduzir os danos oxidativos aos lipídios do tecido cardíaco gerados pela hipertensão experimental. Possivelmente este efeito se dá através do aumento da atividade das enzimas antioxidantes no coração. Estes resultados sugerem que o efeito do treinamento de força sobre a defesa antioxidante deve se dar devido à soma de efeitos de cada sessão de exercício de força.

REFERÊNCIAS

1. Sainz J, Wangenstein R, Rodriguez Gomez I, et al (2005) Antioxidant enzymes and effects of tempol on the development of hypertension induced by nitric oxide inhibition. *Am J Hypertens* 18:871-7.
2. Worou ME, Belmokhtar K, Bonnet P, et al (2011) Hemin decreases cardiac oxidative stress and fibrosis in a rat model of systemic hypertension via PI3K/Akt signalling. *Cardiovasc Res* 91:320-9.
3. Briones AM, Touyz RM (2010) Oxidative stress and hypertension: current concepts. *Curr Hypertens Rep* 12:135-42.
4. Nistala R, Whaley-Connell A, Sowers JR (2008) Redox control of renal function and hypertension. *Antioxid Redox Signal* 10:2047-89.

5. Çakir-Atabek H, Demir S, PinarbaSili RD, Gunduz N (2010) Effects of different resistance training intensity on indices of oxidative stress. *J Strength Cond Res* 24:2491-7.
6. Parise G, Phillips SM, Kaczor JJ, Tarnopolsky MA (2005) Antioxidant enzyme activity is up-regulated after unilateral resistance exercise training in older adults. *Free Radic Biol Med* 39:289-95.
7. Silva TLTB, Mota MM, Fontes MT, et al (2015) Effects of one resistance exercise session on vascular smooth muscle of hypertensive rats. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 105:160-7.
8. Mota MM, Mesquita TR, Silva TLB, et al (2015) Endothelium adjustments to acute resistance exercise are intensity-dependent in healthy animals. *Life Sci* 142:86-91.
9. Lizardo JH, Silveira EA, Vassallo DV, Oliveira EM (2008) Post-resistance exercise hypotension in spontaneously hypertensive rats is mediated by nitric oxide. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 35:782-7.
10. Rodrigues MF, Stotzer US, Domingos MM, et al (2013) Effects of ovariectomy and resistance training on oxidative stress markers in the rat liver. *Clinics* 68:1247-54.
11. Scheffer DL, Silva LA, Tromm CB, et al (2012) Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. *Appl Physiol Nutr Metab* 37:1239-46.
12. Tromm CB, Rosa GL, Bom K, et al (2012) Efeito de diferentes frequências semanais de treinamento sobre parâmetros de estresse oxidativo. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano* 14:52-60.
13. Ahmadiasl N, Najafipour H, Soufi FG, Jafari A (2012) Effect of short- and long-term strength exercise on cardiac oxidative stress and performance in rat. *J Physiol Biochem* 68:121-8.
14. Biancardi VC, Bergamaschi CT, Lopes OU, Campos RR (2007) Sympathetic activation in rats with L-NAME-induced hypertension. *Braz J Med Biol Res* 40:401-8.
15. Tamaki T, Uchiyama S, Nakano S (1992) A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Med Sci Sports Exerc* 24:881-6.

16. Barauna VG, Batista Jr ML, Costa Rosa LF, Casarini DE, Krieger JE, Oliveira EM (2005) Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 32:249-54.
17. Araujo AJ, Santos AC, Souza KS, et al (2013) Resistance training controls arterial blood pressure in rats with L-NAME- induced hypertension. *Arq Bras Cardiol* 100:339-46.
18. Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi J, Wolff SP (1994) Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. *Anal Biochem* 220:403-9.
19. Bose R, Sutherland GR, Pinsky C (1989) Biological and methodological implications of prostaglandin involvement in mouse brain lipid peroxidation measurements. *Neurochem Res* 14:217-20.
20. Faure P, Lafond JL. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. In: Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre JL, editors. *Analysis of Free Radicals in Biological Systems*: Birkhäuser Basel; 1995. p. 237-48.
21. Madesh M, Balasubramanian KA (1998) Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide. *Indian J Biochem Biophys* 35:184-8.
22. Nelson DP, Kiesow LA (1972) Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). *Anal Biochem* 49:474-8.
23. Paglia DE, Valentine WN (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70:158-69.
24. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265-75.
25. Takebe G, Yarimizu J, Saito Y, et al (2002) A comparative study on the hydroperoxide and thiol specificity of the glutathione peroxidase family and selenoprotein P. *J Biol Chem* 277:41254-8.
26. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H (1991) Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 11:81-128.

27. Finaud J, Lac G, Filaire E (2006) Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* 36:327-58.
28. Ramel A, Wagner KH, Elmadfa I (2004) Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. *Eur J Nutr* 43:2-6.
29. Dixon CB, Robertson RJ, Goss FL, Timmer JM, Nagle EF, Evans RW (2006) The effect of acute resistance exercise on serum malondialdehyde in resistance-trained and untrained collegiate men. *J Strength Cond Res* 20:693-8.
30. Antunes F, Han D, Cadenas E (2002) Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H₂O₂ detoxification in in vivo conditions. *Free Radic Biol Med* 33:1260-7.
31. Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, et al (2003) Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol* 89:14-20.
32. Vollaard NB, Shearman JP, Cooper CE (2005) Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med* 35:1045-62.

4.2. CAPÍTULO 2 (Estudo 2)

(Formatação conforme normas para submissão de artigos da *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*)

TREINAMENTO DE FORÇA REDUZ O ESTRESSE OXIDATIVO RENAL EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR

Rodrigo Miguel-dos-Santos; Jucilene Freitas dos Santos; Fabrício Nunes Macedo, Anderson Carlos Marçal; Valter Joviniano Santana-Filho; Rogério Brandão Wichi; Sandra Lauton-Santos.

RESUMO

Introdução: O treinamento de força tem efeitos benéficos nas doenças renais e ajuda a melhorar a defesa antioxidante. **Objetivo:** Avaliar as alterações no estresse oxidativo renal promovidas pelo treinamento de força em ratos com hipertensão renovascular. **Métodos:** Dezoito ratos Wistar foram divididos em três grupos (n=6/grupo): *sham*, hipertenso (2K1C) e hipertenso treinado (2K1C-TR). Os animais foram induzidos a hipertensão renovascular através da ligadura da artéria renal esquerda. O treinamento de força foi iniciado quatro semanas após a indução à hipertensão renovascular, teve duração de 12 semanas e foi realizado a 70% de 1RM. Após o período de treinamento os animais foram eutanasiados e o rim direito foi removido para a quantificação de hidroperóxidos e grupamentos sulfidrílicos, que são marcadores de danos oxidativos. Além da mensuração das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase. **Resultados:** Após o treinamento de força houve redução dos danos oxidativos aos lipídios e proteínas, como pôde ser visto através da redução de hidroperóxidos e sulfidrilas totais, respectivamente. Além disso houve aumento da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase. **Conclusão:** O treinamento de força é capaz de reduzir os danos oxidativos através do aumento da atividade das enzimas antioxidantes.

Palavras-chave: Treinamento resistido; Status redox; Danos oxidativos; Antioxidantes; Estenose da artéria renal; Ratos.

INTRODUÇÃO

A hipertensão renovascular, tipo de hipertensão causada pela estenose total ou parcial da artéria renal decorrente de fatores genéticos ou da aterosclerose, é a principal forma de hipertensão secundária¹. Neste tipo de hipertensão o aumento da pressão arterial (PA) é desencadeado pela maior liberação de renina pelo rim isquêmico devido à redução do fluxo sanguíneo para este órgão, em decorrência da estenose da artéria renal^{1,2}.

A renina é responsável pela conversão do angiotensinogênio em angiotensina I no fígado, que, ao alcançar os pulmões, através da circulação sanguínea, é clivada pela enzima conversora de angiotensina (ECA) produzindo angiotensina II (Ang II)^{3,4}. Deste modo, a elevação da renina circulante desencadeia um aumento da liberação de Ang II. Por sua vez, a ANG II ativa as enzimas NADPH oxidase³ e xantina oxidase⁴, aumentando a produção de ânion superóxido (O_2^-), uma molécula sinalizadora pró-oxidante altamente reativa, que pode causar danos oxidativos aos lipídios, proteínas e ao DNA, como já foi descrito na hipertensão renovascular^{5,6}. O aumento dos danos oxidativos no rim pode ocasionar o aumento da fibrose do tecido, que provoca a redução da sua função², e, tardiamente, levando à insuficiência do rim que não foi acometido pela estenose.

Relatos na literatura ação protetora do treinamento de força no tratamento de diversas doenças, dentre elas a hipertensão arterial⁷. Dentre os benefícios gerados pelo treinamento de força, já foi visto que promove a melhora da função cardíaca⁸, aumento da atividade e da expressão das enzimas sintases do óxido nítrico^{9,10}. Destas alterações resultam o aumento da liberação de óxido nítrico, melhora do tônus vascular^{9,10} e redução da PA em animais normotensos¹¹ e hipertensos¹².

Além disso, também já foi descrita a ação protetora do treinamento de força no estresse oxidativo, melhorando a defesa antioxidante no fígado¹³ e músculo esquelético¹⁴. Porém, os efeitos do treinamento de força no rim contralateral à estenose da artéria renal são desconhecidos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar se o treinamento de força reduz os danos oxidativos ao rim contralateral à cirurgia de indução à hipertensão renovascular, bem como avaliar as alterações na atividade das enzimas antioxidantes endógenas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx).

MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental do presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA - #54/2015) da Universidade Federal de Sergipe, estando em conformidade com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Amostra

Foram utilizados ratos Wistar com idade entre 10 a 12 semanas e massa corporal entre 240 e 270 g, obtidos do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. Os animais foram acomodados em gaiolas coletivas (CxLxA - 47 x 32 x

15 cm - 22.560 cm³) com no máximo cinco animais por gaiola, mantidos sob condições controladas de temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) e ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à alimentação (Labina, Purina®) e água filtrada.

Grupos experimentais

Dezoito animais foram divididos, de forma aleatória, em três grupos experimentais ($n = 6$ por grupo): *sham* (controle negativo), hipertenso (2K1C, controle positivo) e hipertenso treinado (2K1C-TR).

Indução da hipertensão renovascular

A indução à hipertensão foi feita nos animais dos grupos 2K1C e 2K1C-TR através do modelo de clipagem da artéria renal desenvolvido por Goldblatt et al.¹⁵, seguindo as adaptações propostas por Cangiano et al.¹⁶. Desta forma, com os animais sob anestesia (cetamina 90 mg/kg e xilazina 10 mg/kg, intraperitoneal), foi feita uma incisão no flanco esquerdo do dorso dos animais para exteriorização do rim esquerdo e foi feita uma ligadura da artéria renal com uma linha cirúrgica de algodão estéril 4.0. Os animais do grupo *Sham* foram submetidos à cirurgia apenas para exteriorização do rim esquerdo para mimetizar o estresse gerado pela cirurgia nos animais dos grupos 2K1C e 2K1C-TR.

Protocolo de treinamento de força

Três semanas após a realização da cirurgia de indução à hipertensão, os animais dos grupos 2K1C e 2K1C-TR passaram por um período de adaptação ao aparelho de treinamento, por cinco dias consecutivos. No dia seguinte ao último dia de adaptação, e a cada duas semanas, foi realizado o teste de uma repetição máxima (1RM) nos animais de ambos os grupos, com o intuito de determinar a carga utilizada nas sessões de treinamento¹⁷.

O treinamento de força foi realizado com o modelo descrito por Tamaki, Uchiyama e Nakano¹⁸ e que vem sendo utilizado em outros estudos^{11,12}. Os animais foram fixados no aparelho através de uma jaqueta e foi conectado um eletroestimulador em sua cauda, assim o animal recebeu um estímulo elétrico (10-15 v, 0,3 s de duração, 3 s de intervalo)¹¹. Os animais do grupo 2K1C receberam apenas a estimulação elétrica sem realizar o treinamento de força.

O período de treinamento teve duração de 12 semanas e foi iniciado 48 horas após o teste de 1RM. Cada sessão de treinamento de força foi feita com sobrecarga de 70% de 1RM, com quatro séries de 12 repetições e intervalos de noventa segundos. O treinamento e a eletroestimulação foram realizados sempre no início do ciclo ativo dos animais (18-20 h), visto que é durante o ciclo escuro que os animais apresentam melhor tolerância ao exercício¹⁹.

Aferição da pressão arterial média

Vinte e quatro horas após o período de treinamento os animais realizaram novamente o teste de 1RM e 48 h após a realização deste teste, foi aferida a PA média (PAM) dos animais. A PA dos animais foi medida por meio do implante de um cateter na artéria femoral, através de um transdutor de pressão (Edwards Lifescience, Irvine, CA, EUA) acoplado a um pré-amplificador (BioData, Model BD-01, PB, Brasil).

Os sinais de PA pulsátil foram registrados por 30 minutos com os animais acordados (Advanced Cudas/Windaq, Dataq Instruments Inc, Akron, OH, EUA),

permitindo a análise de pulsos de pressão, batimento a batimento, para identificação dos valores da PA sistólica, diastólica e média. A PAM foi determinada através da PA sistólica e diastólica no próprio software de registro.

Danos oxidativos ao tecido renal

Após a avaliação da PA os animais foram eutanasiados por decapitação e o rim direito foi excisado para a realização dos testes de danos oxidativos e de atividade das enzimas antioxidantes neste tecido.

Para determinar os danos oxidativos aos lipídios no tecido renal, foi mensurado os produtos da lipoperoxidação, através da medida da oxidação do xilenol *orange*, na qual ocorre a oxidação de íons ferroso (Fe^{2+}) a íons férrico (Fe^{3+}) sob condições ácidas, pelos hidroperóxidos lipídicos²⁰.

Também foi feita a medida de grupamentos sulfidrilas, que são estruturas associadas a proteínas altamente susceptíveis a dano oxidativos. Através da sua quantificação é possível estimar quanto o tecido sofreu danos. A determinação dos grupamentos sulfidrilas foi feita através da reação entre 5'5-dithio-bis-2-ácido nitrobenzoico (DTNB) com a sulfidrilas livre da cadeia lateral da cisteína²¹.

Atividade das enzimas antioxidantes

A atividade da enzima SOD foi determinada pela capacidade da enzima tecidual em dismutar os ânions superóxidos derivados da auto-oxidação do pyrogallol e pela reação destes reduzindo o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) e formando os cristais de formazan²².

A atividade da CAT foi estimada pela velocidade de degradação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) segundo protocolo descrito previamente por Nelson e Kiesow²³. A atividade da GPx foi avaliada através da oxidação do NADPH, como descrito por Paglia e Valentine²⁴.

Determinação da concentração de proteínas nas amostras

A determinação da concentração de proteínas, nos ensaios realizados, foi feita pela técnica de Lowry et al.²⁵, quantificando as concentrações de proteínas presentes no homogenato das amostras, através da comparação com uma curva padrão feita com albumina do soro bovino em diversas concentrações.

Análise estatística

Os resultados estão expressos em média \pm erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi realizada através da análise de variância (ANOVA) de uma via seguido do pós-teste de Bonferroni. Um valor de p menor do que 0,05 foi considerado como estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Na tabela 1 é possível verificar que a indução a hipertensão renovascular provocou o aumento da PAM nos animais 2K1C em comparação aos animais do grupo *Sham* ($p < 0,001$). E os animais 2K1C que foram submetidos ao treinamento de força tiveram menores valores de PAM comparado aos animais 2K1C sedentários ($p < 0,05$). Porém a PAM dos animais 2K1C treinados foi maior do que dos animais *Sham*.

Tabela 1. Alteração na pressão arterial decorrente da hipertensão renovascular.

	Sham	2K1C	2K1C - TR
PAM (mmHg)	113,3±2,5	165,3±6,9***	138,2±5,9*#

Os dados são apresentados como médias \pm EPM. *** $p < 0,001$ em relação ao grupo *Sham*; * $p < 0,05$ em relação ao grupo *Sham*; # $p < 0,05$ em relação ao grupo 2K1C. 2K1C: hipertenso; 2K1C - TR: hipertenso treinado; PAM: Pressão arterial média.

O treinamento de força promoveu o aumento da carga levantada pelos animais 2K1C treinados no teste de 1RM (pré: $1336 \pm 18,6$ g vs pós: $2458 \pm 69,8$ g; $p > 0,05$; Figura 1) após 12 semanas de treinamento. Não foi vista alteração na carga levantada pelos animais 2K1C que não fizeram o treinamento de força (pré: $1304 \pm 30,7$ g vs pós: $1444 \pm 30,9$ g; $p > 0,05$).

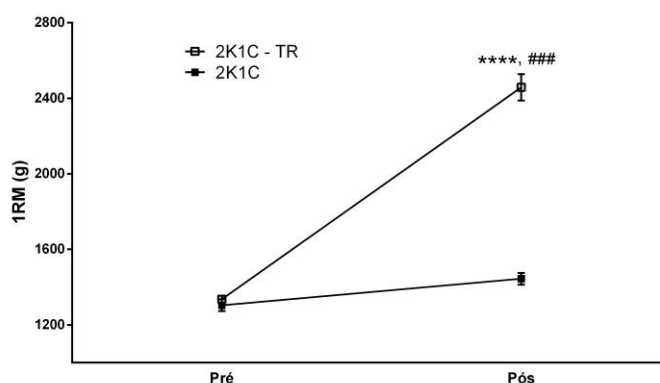


Figura 1. Valores absolutos do teste de uma repetição máxima. 1RM: uma repetição máxima; 2K1C: hipertenso; 2K1C - TR: hipertenso treinado. **** $p < 0,0001$ em relação ao pré do grupo 2K1C - TR; ### $p < 0,0001$ em relação ao pós do grupo 2K1C.

A hipertensão renovascular promoveu aumento de hidroperóxidos no rim contralateral à estenose da artéria renal ($4,39 \pm 0,11$ $\mu\text{mol/L}$; $p < 0,05$; Figura 2, painel A) comparado ao grupo *Sham* ($3,97 \pm 0,03$ $\mu\text{mol/L}$). Já os animais que passaram pela cirurgia de indução à hipertensão renovascular e foram submetidos ao treinamento de força tiveram redução dos hidroperóxidos ($3,99 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/L}$, $p < 0,05$) em comparação ao grupo hipertenso.

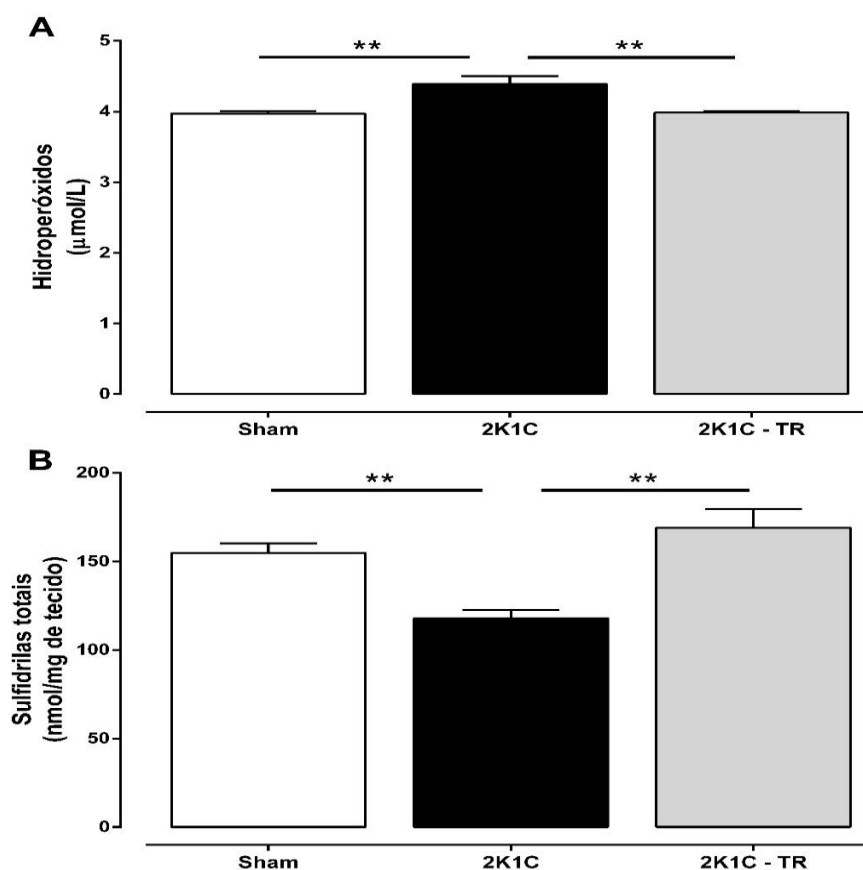


Figura 2. Efeitos da hipertensão e do treinamento de força sobre os marcadores de danos oxidativos (A) hidroperóxidos e (B) sulfidrilas totais no rim direito. 2K1C: hipertenso; 2K1C - TR: hipertenso treinado. ** $p < 0,01$.

Foi verificado redução dos grupamentos sulfidrílicos em decorrência da hipertensão renovascular ($117,9 \pm 4,77$ nmol/mg de tecido, $p < 0,05$; figura 2, painel B), comparado ao grupo *Sham* ($154,8 \pm 5,30$ nmol/mg de tecido). Enquanto que os animais 2K1C que foram treinados ($169,0 \pm 10,54$ nmol/mg de tecido vs 2K1C, $p < 0,05$) apresentaram quantidades de grupamentos sulfidrílicos comparáveis aos do grupo *Sham*.

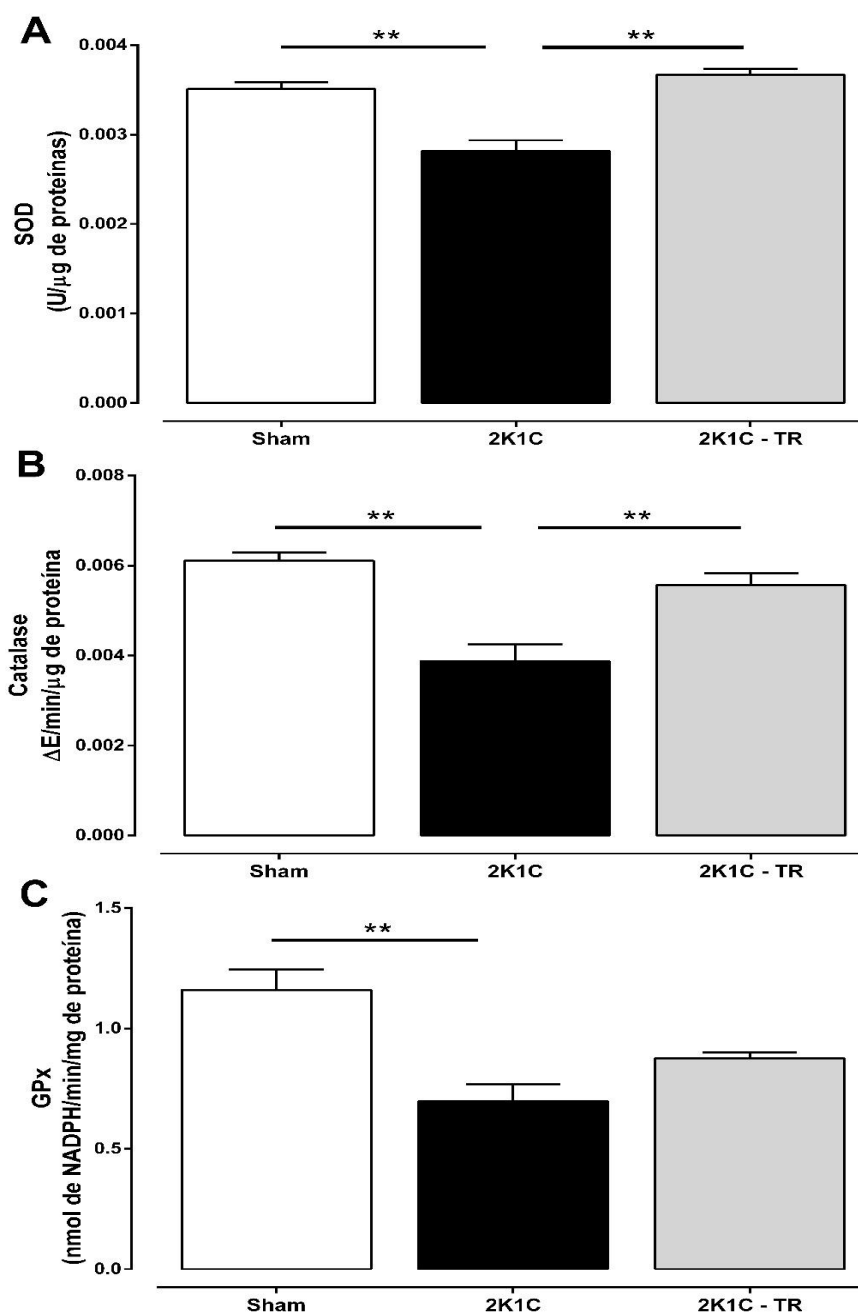


Figura 3. Efeitos da hipertensão e do treinamento de força sobre a atividade das enzimas antioxidantes (A) Superóxido dismutase, (B) Catalase e (C) Glutaciona peroxidase. SOD: superóxido dismutase; GPx: glutaciona peroxidase; 2K1C: hipertenso; 2K1C - TR: hipertenso treinado. ** $p < 0,01$.

Ao avaliar as alterações na atividade das enzimas antioxidantes, foi visto que a hipertensão renovascular promoveu redução na atividade das enzimas SOD ($0,0028 \pm 0,00012$ U/μg de proteínas, $p < 0,05$; Figura 3, painel A), CAT ($0,0039 \pm 0,00037$ ΔE/min/μg de proteína, $p < 0,05$; Figura 3, painel B) e GPx ($0,70 \pm 0,07$ nmol de NADPH/min/mg de proteína, $p < 0,05$; Figura 3, painel C), comparado ao grupo Sham ($0,0035 \pm 0,00007$ U/μg de proteínas, $0,0061 \pm$

0,00018 $\Delta E/\text{min}/\mu\text{g}$ de proteína, $1,16 \pm 0,08$ nmol de NADPH/min/mg de proteína, respectivamente).

Os animais 2K1C submetidos ao treinamento de força apresentaram atividade das enzimas antioxidantes SOD ($0,0037 \pm 0,00006$ U/ μg de proteínas, $p < 0,05$; figura 3, painel A) e CAT ($0,0056 \pm 0,00026$ $\Delta E/\text{min}/\mu\text{g}$ de proteína, $p < 0,05$; figura 3, painel B) aumentada comparado ao grupo hipertenso. Não foi encontrada alteração na atividade da GPx ($0,88 \pm 0,02$ nmol de NADPH/min/mg de proteína, $p > 0,05$; figura 3, painel C), tanto comparado ao grupo *Sham*, como em comparação ao grupo hipertenso.

DISCUSSÃO

Os principais resultados do presente estudo demonstram que o treinamento de força de 12 semanas com intensidade moderada reduziu os danos oxidativos ao rim contralateral na hipertensão renovascular, através do aumento da atividade das enzimas antioxidantes endógenas.

Os animais do presente estudo foram induzidos a hipertensão através do modelo desenvolvido por Goldblatt et al.¹⁵, seguindo as alterações propostas por Cangiano et al.¹⁶, sendo feita a estenose total da artéria renal esquerda. Já foi demonstrado por Cangiano et al.¹⁶ que este modelo de hipertensão experimental provoca aumento da atividade da renina plasmática, bem como da PA. Assim como ocorreu no presente trabalho, no qual os animais 2K1C tiveram valores elevados de PA. Demonstrando, desta forma, que o modelo de indução a hipertensão experimental foi bem realizado.

Neste trabalho foi utilizado o modelo de treinamento de força descrito por Tamaki, Uchiyama e Nakano¹⁸ e que alguns estudos tem relatado seus efeitos benéficos similares aos encontrados em humanos que praticam esta modalidade de treinamento físico. Dentre estes efeitos benéficos podemos observar que este modelo de treinamento de força em animais promove o controle da PA^{11,12}, hipertrofia e aumento da força muscular¹⁸ e melhora a defesa antioxidante²⁶.

No presente trabalho foi encontrado que o treinamento de força de moderada intensidade foi eficiente em aumentar a força dos animais treinados. Demonstrando que desencadeou alterações benéficas, como também foi visto pela redução da PA. Além disso, os efeitos benéficos também puderam ser constatados através da redução dos danos aos lipídios e através da preservação dos grupamentos sulfidrílicos. Já foi reportado na literatura que o treinamento físico aeróbico de natação realizado com intensidade moderada reduz os danos oxidativos no rim contralateral à estenose da artéria renal²⁷.

Outros trabalhos também demonstraram esse efeito protetor do exercício físico, principalmente o treinamento aeróbico de natação²⁸, com a utilização de sobrecarga crescente de 2 a 5% da massa corporal e duração de seis semanas. Assim como já foi relatado que o treinamento aeróbico em esteira com intensidade crescente, entre oito e 20 m/min, por 11 semanas²⁹, reduz os danos oxidativos renais em outros modelos de hipertensão experimental. Este efeito protetor do exercício físico também pôde ser visto em outro modelo de doenças renais crônicas³⁰, no qual foi realizado exercício físico aeróbico em esteira com intensidade crescente entre 13 e 17 m/min por oito semanas.

Esta proteção promovida pelo exercício físico é importante para evitar que ocorra fibrose do tecido renal, processo que ocorre através da deposição de

colágeno nas áreas que sofreram os danos oxidativos³¹. Estes danos estão aumentados na hipertensão renovascular devido à hiperativação do sistema renina angiotensina aldosterona, como resultado da diminuição da pressão de perfusão renal^{2,31}. Em decorrência disto, aumenta a concentração de Ang II circulante, impactando no parênquima renal distal devido à hipóxia secundária à obstrução da artéria renal, gerando, assim, o estresse oxidativo como consequência do aumento das espécies reativas de oxigênio nos rins, podendo amplificar o dano estrutural e funcional renal².

Contudo, o organismo possui mecanismos para evitar que ocorra estes danos oxidativos gerados pelo O_2^- , H_2O_2 e pelo radical hidroxila, sendo um destes mecanismos o da ativação das enzimas antioxidantes endógenas³². Por meio deste mecanismo a enzima antioxidante SOD catalisa a dismutação do O_2^- a H_2O_2 . Subsequentemente, o H_2O_2 é reduzido a H_2O e O_2 pelas peroxidases, GPx ou CAT³². Em indivíduos saudáveis há expressão destas enzimas de maneira diferenciada nos vários órgãos, dependendo dos processos metabólicos e funcionais que ocorrem nos mesmos. Entretanto essas enzimas antioxidantes se encontram reduzidas durante a hipertensão arterial^{28,33}.

No presente estudo foi observada a redução da atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx no rim contralateral à cirurgia de indução à hipertensão renovascular nos animais do grupo 2K1C. Outros trabalhos corroboram estes achados, mostrando que tanto a atividade⁶, quanto a expressão gênica destas enzimas estão reduzidas neste modelo de hipertensão renovascular⁵.

O treinamento físico aeróbico de natação^{27,34} tem se mostrado capaz de aumentar a atividade das enzimas SOD e CAT no rim contralateral e no coração de animais com hipertensão induzida usando o mesmo modelo 2K1C. E apesar de ainda não ter sido estudado os efeitos do treinamento de força sobre o estresse oxidativo do rim contralateral, já foi demonstrado que o treinamento de força de escalada por 12 semanas promove aumento na atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx dependente da intensidade, e que a expressão das enzimas CAT e GPx também estavam aumentadas em músculo esquelético de animais saudáveis¹⁴.

Nossos resultados demonstram pela primeira vez que o treinamento de força tem efeito protetor, como já foi observado em outras modalidades de exercício físico. O treinamento de força aumentou a atividade das enzimas SOD e da CAT no rim contralateral, reestabelecendo esta atividade antioxidante para valores encontrados em animais saudáveis (grupo *Sham*), indicando que este é um possível mecanismo pelo qual o treinamento de força é capaz de reduzir os danos oxidativos nos animais hipertensos 2K1C.

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente trabalho permitem concluir que o treinamento de força é capaz de reduzir os danos oxidativos no rim contralateral que foram gerados na hipertensão renovascular. Esta redução pode ter ocorrido por conta do aumento da atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT, promovido pelo treinamento de força. Portanto, estes resultados indicam que o treinamento de força é uma importante ferramenta não farmacológica para o

tratamento da hipertensão renovascular, prevenindo a progressão dos danos ao rim que não possui a estenose da artéria renal.

REFERÊNCIAS

1. Kalra PA, Guo H, Kausz AT, Gilbertson DT, Liu J, Chen SC, et al. Atherosclerotic renovascular disease in united states patients aged 67 years or older: Risk factors, revascularization, and prognosis. *Kidney Int.* 2005;68(1):293-301.
2. Lerman LO, Textor SC, Grande JP. Mechanisms of tissue injury in renal artery stenosis: Ischemia and beyond. *Prog Cardiovasc Dis.* 2009;52(3):196-203.
3. Seshiah PN, Weber DS, Rocic P, Valppu L, Taniyama Y, Griendling KK. Angiotensin II stimulation of NADPH oxidase activity: Upstream mediators. *Circ Res.* 2002;91(5):406-413.
4. Mervaala EM, Cheng ZJ, Tikkanen I, Lapatto R, Nurminen K, Vapaatalo H, et al. Endothelial dysfunction and xanthine oxidoreductase activity in rats with human renin and angiotensinogen genes. *Hypertension.* 2001;37(2 Pt 2):414-418.
5. Nishi EE, Oliveira-Sales EB, Bergamaschi CT, Oliveira TG, Boim MA, Campos RR. Chronic antioxidant treatment improves arterial renovascular hypertension and oxidative stress markers in the kidney in wistar rats. *Am J Hypertens.* 2010;23(5):473-480.
6. Toklu HZ, Sehirli O, Ersahin M, Suleymanoglu S, Yiginer O, Emekli-Alturfan E, et al. Resveratrol improves cardiovascular function and reduces oxidative organ damage in the renal, cardiovascular and cerebral tissues of two-kidney, one-clip hypertensive rats. *J Pharm Pharmacol.* 2010;62(12):1784-1793.
7. Polito MD. Força muscular versus pressão arterial de repouso: Uma revisão baseada no treinamento com pesos. *Rev Bras Med Esporte.* 2009;15:299-305.
8. Pinter RCCE, Padilha AS, de Oliveira EM, Vassallo DV, Lizardo JHF. Cardiovascular adaptive responses in rats submitted to moderate resistance training. *Eur J Appl Physiol.* 2008;103(5):605-613.
9. Kuru O, Senturk UK, Kocer G, Ozdem S, Baskurt OK, Cetin A, et al. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic NOS inhibition. *J Appl Physiol (1985).* 2009;107(3):896-902.
10. Harris MB, Slack KN, Prestosa DT, Hryvniak DJ. Resistance training improves femoral artery endothelial dysfunction in aged rats. *Eur J Appl Physiol.* 2010;108(3):533-540.
11. Barauna VG, Batista Jr ML, Costa Rosa LF, Casarini DE, Krieger JE, Oliveira EM. Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2005;32(4):249-254.
12. Araujo AJ, Santos AC, Souza KS, Aires MB, Santana-Filho VJ, Fioretto ET, et al. Resistance training controls arterial blood pressure in rats with L-NAME-induced hypertension. *Arq Bras Cardiol.* 2013;100(4):339-346.
13. Rodrigues MF, Stotzer US, Domingos MM, Deminice R, Shiguemoto GE, Tomaz LM, et al. Effects of ovariectomy and resistance training on oxidative stress markers in the rat liver. *Clinics.* 2013;68(9):1247-1254.
14. Scheffer DL, Silva LA, Tromm CB, da Rosa GL, Silveira PC, de Souza CT, et al. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2012;37(6):1239-1246.

15. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension: I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med*. 1934;59(3):347-379.
16. Cangiano JL, Rodriguez-Sargent C, Martinez-Maldonado M. Effects of antihypertensive treatment on systolic blood pressure and renin in experimental hypertension in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1979;208(2):310-313.
17. American College of Sports Medicine (ACSM). ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
18. Tamaki T, Uchiyama S, Nakano S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Med Sci Sports Exerc*. 1992;24(8):881-886.
19. Beck WR, Ribeiro LFP, Scariot PPM, dos Reis IGM, Gobatto CA. Time of day effects on aerobic capacity, muscle glycogen content and performance assessment in swimming rats. *Science & Sports*. 2014;29(6):319-323.
20. Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi J, Wolff SP. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. *Anal Biochem*. 1994;220(2):403-409.
21. Faure P, Lafond JL. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. In: Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre JL, eds. *Analysis of free radicals in biological systems*. Birkhäuser Basel; 1995:237-248.
22. Madesh M, Balasubramanian KA. Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide. *Indian J Biochem Biophys*. 1998;35(3):184-188.
23. Nelson DP, Kiesow LA. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). *Anal Biochem*. 1972;49(2):474-478.
24. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967;70(1):158-169.
25. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-275.
26. Ghiasi R, Mohammadi M, Ashrafi Helan J, Jafari Jozani SR, Mohammadi S, Ghiasi A, et al. Influence of two various durations of resistance exercise on oxidative stress in the male rat's hearts. *J Cardiovasc Thorac Res*. 2015;7(4):149-153.
27. Özdemir Kumral ZN, Şener G, Yeğen BÇ. Regular swimming exercise performed either before or after the induction of renovascular hypertension alleviates oxidative renal injury in rats. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2014;18(2):66-72.
28. Cardoso AM, Martins CC, Fiorin Fda S, Schmatz R, Abdalla FH, Gutierrez J, et al. Physical training prevents oxidative stress in L-NAME-induced hypertension rats. *Cell Biochem Funct*. 2013;31(2):136-151.
29. Gu Q, Zhao L, Ma YP, Liu JD. Contribution of mitochondrial function to exercise-induced attenuation of renal dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *Mol Cell Biochem*. 2015;406(1-2):217-225.

30. de Souza PS, Rocha LG, Tromm CB, Scheffer DL, Victor EG, Silveira PC, et al. Therapeutic action of physical exercise on markers of oxidative stress induced by chronic kidney disease. *Life Sci.* 2012;91(3-4):132-136.
31. Zhong J, Guo D, Chen CB, Wang W, Schuster M, Loibner H, et al. Prevention of angiotensin II-mediated renal oxidative stress, inflammation, and fibrosis by angiotensin-converting enzyme 2. *Hypertension.* 2011;57(2):314-322.
32. Schneider CD, Oliveira AR. Radicais livres de oxigênio e exercício: Mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte.* 2004;10308-313.
33. Saravanakumar M, Raja B. Veratric acid, a phenolic acid attenuates blood pressure and oxidative stress in L-NAME induced hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.* 2011;671(1-3):87-94.
34. Maia RC, Sousa LE, Santos RA, Silva ME, Lima WG, Campagnole-Santos MJ, et al. Time-course effects of aerobic exercise training on cardiovascular and renal parameters in 2K1C renovascular hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res.* 2015;48(11):1010-1022.

4.3. CAPÍTULO 3 (Estudo 3)

(Conforme submetido à *Revista Andaluza de Medicina del Deporte* - ref. RAMD-D-16-00013)

Treinamento de força atenua as hipertrofias renal e cardíaca decorrentes da hipertensão renovascular

Rodrigo Miguel-dos-Santos; Jucilene Freitas dos Santos; Fabrício Nunes Macedo, Marcos Bezerra de Almeida; Valter Joviniano Santana-Filho; Rogério Brandão Wichi; Sandra Lauton-Santos.

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos do treinamento de força sobre as hipertrofias renal e cardíaca induzida pela hipertensão renovascular.

Métodos: Dezoito ratos Wistar foram divididos em três grupos: sham, hipertenso (2K1C) e hipertenso treinado (2K1C-TR). Os animais foram induzidos a hipertensão renovascular através da ligadura da artéria renal esquerda. O treinamento de força foi iniciado quatro semanas após a indução da hipertensão renovascular, teve duração de 12 semanas e foi realizado a 70% de 1RM. Ao final foi medida pressão arterial, frequência cardíaca e parâmetros das hipertrofias renal e cardíaca.

Resultados: O treinamento de força diminuiu as massas absolutas e os índices de hipertrofias renal e cardíaca. Além disso, reverteu as alterações hemodinâmicas geradas pela hipertensão renovascular.

Conclusão: O treinamento de força tem efeitos benéficos na hipertensão renovascular e é capaz de reduzir a pressão arterial e frequência cardíaca, além de atenuar as hipertrofias renal e cardíaca.

Palavras-chave: Treinamento resistido; Estenose da artéria renal; Remodelamento renal; Remodelamento cardíaco; Ratos.

INTRODUÇÃO

A hipertensão é definida como uma situação na qual, em repouso, a pressão arterial sistólica (PAS) é maior ou igual a 140 mmHg e/ou a pressão arterial diastólica (PAD) maior ou igual a 90 mmHg¹. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a prevalência da pressão arterial (PA) alta foi de aproximadamente 22% da população mundial em 2014², com projeções estimando um aumento de 30% na prevalência no ano 2025³. Sendo necessário, então, atentar para sua prevenção, visto que a hipertensão arterial é um dos principais fatores que contribuem para as doenças cardiovasculares, tais como acidente vascular cerebral, doença cardíaca coronariana, doença arterial periférica, hipertrofia cardíaca e insuficiência cardíaca⁴.

A hipertensão arterial sistêmica pode ter etiologia primária ou secundária, e uma das principais causas da hipertensão secundária é a hipertensão renovascular, que é causada pela estenose da artéria renal, devido à má formação congênita ou devido à obstrução provocada pela aterosclerose⁵⁻⁸. A oclusão da artéria renal provoca a isquemia do rim, desencadeando a liberação de renina e uma elevação da PA secundária^{5,6}, pois a hiperreninemia promove a conversão de angiotensina I em angiotensina II, causando vasoconstrição e grande liberação de aldosterona, que também contribui para o aumento da PA vista na hipertensão renovascular⁹.

Dentre as principais consequências da hipertensão renovascular está a hipertrofia do rim contralateral e do coração, com o aumento da fibrose do tecido, que provoca a redução da função, podendo desencadear, inclusive, a insuficiência destes órgãos, aumentando o risco de morte⁷. Além disso, diversas evidências apontam que o exercício físico, principalmente em sua modalidade aeróbica, pode ser utilizado como estratégia não farmacológica para o tratamento da hipertensão¹⁰ e que é capaz de reduzir a PA na hipertensão renovascular experimental^{8,11-13}.

Também já foi demonstrado que o treinamento de força é capaz de melhorar a função renal¹⁴. Entretanto, não há trabalhos que tenham avaliado os efeitos do treinamento de força na hipertensão renovascular, merecendo, dessa forma, grande atenção, pois já foi demonstrado que o treinamento de força regula o sistema renina angiotensina aldosterona^{15,16}, melhora a função cardíaca¹⁷, aumenta a atividade e a expressão das enzimas óxido nítrico sintases^{18,19}, resultando no aumento da liberação de óxido nítrico, melhora o tônus vascular^{18,19} e redução da PA em animais²⁰. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do treinamento de força sobre as hipertrofias renal e cardíaca induzida pela hipertensão renovascular.

MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental do presente trabalho foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA: #54/2015) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), estando em conformidade com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Amostra

Foram utilizados 18 ratos Wistar, obtidos do biotério central da UFS, com idade entre 10 a 12 semanas e 240 a 270 g de massa corporal. Os animais foram acomodados em gaiolas coletivas (CxLxA - 47 x 32 x 15 cm - 22.560 cm³) com no máximo cinco animais por gaiola, mantidos sob condições controladas de temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) e ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à alimentação (Labina, Purina®) e água filtrada.

Grupos experimentais

Os animais foram divididos, de forma aleatória, nos três grupos experimentais: *sham* (controle negativo, n=6), hipertenso (2K1C, controle positivo, n=6) e hipertenso treinado (2K1C-TR, n=6).

Indução da hipertensão renovascular

A hipertensão foi induzida nos animais dos grupos 2K1C através de clipagem da artéria renal desenvolvido por Goldblatt et al.⁶, seguindo as adaptações propostas por Cangiano et al.⁵. De forma resumida, com os animais sob anestesia (cetamina 90 mg/kg e xilazina 10 mg/kg, intraperitonal), foi feita uma incisão no flanco esquerdo do dorso dos animais para exteriorização do rim esquerdo e foi feita uma ligadura da artéria renal com uma linha cirúrgica de algodão estéril 4.0. Os animais do grupo *Sham* foram submetidos à cirurgia apenas para exteriorização do rim esquerdo para mimetizar o estresse gerado pela cirurgia nos animais dos grupos 2K1C.

Protocolo de treinamento de força

O treinamento foi realizado através do modelo descrito por Tamaki, Uchiyama e Nakano²¹ e que vem sendo utilizado em outros estudos^{15,20,22,23}. Os animais foram fixados no aparelho através de uma jaqueta e foi conectado um eletroestimulador em sua cauda, assim o animal recebeu um estímulo elétrico (10-15 v, 0,3s de duração, 3s de intervalo), fazendo com que os animais levantassem a carga do aparelho, através da extensão de suas pernas.

Três semanas após a realização da cirurgia de indução à hipertensão, os animais dos grupos 2K1C passaram por um período de adaptação ao aparelho de treinamento, por cinco dias consecutivos, 10 minutos em cada dia, sem estímulo elétrico e sem carga durante este período. No dia seguinte ao último dia de adaptação, e a cada duas semanas, foi realizado o teste de uma repetição máxima (1RM) nos animais dos

grupos 2K1C, com o intuito de determinar as alterações na força dos animais e a carga utilizada nas sessões de treinamento dos animais do grupo 2K1C-TR. Para determinar esta carga, os animais foram estimulados eletricamente a tentar executar 1RM do exercício proposto. O 1RM foi definido como a carga máxima que os ratos foram capazes de levantar, em três tentativas, após a estimulação elétrica²⁴. Após a realização do teste de 1RM os animais 2K1C foram divididos aleatoriamente nos grupos 2K1C treinado, que realizaram o treinamento com a utilização de sobrecarga, e 2K1C, que receberam apenas a estimulação elétrica sem utilização de sobrecarga.

O período de treinamento teve duração de 12 semanas e foi iniciado 48 horas após o teste de 1RM. Cada sessão de treinamento de força foi feito com sobrecarga de 70% de 1RM com quatro séries de 12 repetições e intervalos de 90 segundos. O treinamento e a eletroestimulação foram realizados sempre no início do ciclo ativo dos animais (18-20h), visto que é durante o ciclo escuro que os animais apresentam melhor tolerância ao exercício²⁵.

Medição das variáveis hemodinâmicas

A PA e a frequência cardíaca (FC) dos animais foram medidas ao término do período experimental, 72 horas após a última sessão de treino, por meio do implante de um cateter na artéria femoral, através de um transdutor de pressão (Edwards Lifescience, Irvine, CA, EUA) acoplado a um pré-amplificador (BioData, Model BD-01, PB, Brasil).

Os sinais de PA pulsátil foram registrados por 30 minutos com os animais acordados (Advanced Cudas/Windaq, Dataq Instruments Inc, Akron, OH, EUA), permitindo a análise de pulsos de pressão, batimento a batimento, para identificação dos valores da PAS, PAD e PA média (PAM). Os valores de FC foram derivados dos sinais pulsáteis da PA.

Após o registro da PA e FC os animais foram eutanasiados por decapitação, sendo o coração e rim cuidadosamente removidos para as devidas análises de hipertrofia cardíaca e renal.

Avaliação das hipertrofias renal e cardíaca

Para avaliar os efeitos da cirurgia de indução à hipertensão renovascular sobre o remodelamento renal e cardíaco, e se o treinamento de força reverte estas alterações, foi feita a análise do índice de hipertrofia renal, bem como do índice de hipertrofia cardíaca, através da medida da massa do rim direito e do coração, respectivamente, em miligramas. Para evitar a influência da massa corporal dos animais sobre a análise da hipertrofia renal e cardíaca, foi feita a normalização do índice de hipertrofia renal através da razão entre massa absoluta do rim direito e do coração, e a massa corporal dos animais, em gramas. Os índices de hipertrofia renal e cardíaca também foram normalizados através do comprimento da tíbia, na tentativa de evitar que o tamanho do animal interferisse na interpretação do resultado do remodelamento renal e cardíaco induzido pela hipertensão renovascular, em milímetros²⁶.

Análise estatística

Os resultados estão expressos em média \pm erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi realizada através da análise de variância (ANOVA) de uma via seguido do pós-teste de Bonferroni. Um valor de p menor do que 0,05 foi considerado como estatisticamente significativo.

RESULTADOS

A tabela 1 demonstra os efeitos da hipertensão renovascular e do exercício de força na FC e na PAM. A indução da hipertensão renovascular causou aumento da FC

nos animais do grupo 2K1C ($P < 0,001$) comparado ao grupo Sham. Por outro lado, o grupo 2K1C-TR apresentou média da FC semelhante ao grupo Sham ($P > 0,05$) e menor em relação ao grupo 2K1C ($p < 0,01$). A PAM dos animais 2K1C também aumentou comparado ao grupo Sham ($p < 0,001$) e o grupo 2K1C-TR apresentou menores valores de PAM comparado ao 2K1C ($p < 0,05$), apesar de ainda ser maior do que a média do grupo Sham ($p < 0,05$).

Tabela 1. Efeitos do treinamento de força nas variáveis hemodinâmicas na hipertensão renovascular.

Variáveis hemodinâmicas	Sham	2K1C	2K1C-TR
FC (bpm)	337,5±4,5	384,5±9,0***	338,0±4,0##
PAM (mmHg)	113,6±2,0	164,6±5,3***	138,3±7,6*#

Os dados são apresentados como médias \pm EPM. ANOVA de uma via seguido pelo pós teste de Bonferroni. *** $p < 0,001$ em relação ao grupo Sham; ## $p < 0,01$ em relação ao grupo 2K1C; * $p < 0,05$ em relação ao grupo Sham; # $p < 0,05$ em relação ao grupo 2K1C. 2K1C: Hipertenso; 2K1C - TR: Hipertenso treinado; FC: Frequência cardíaca; PAM: Pressão arterial média.

Na figura 1 é possível verificar que após a indução à hipertensão renovascular houve aumento na massa absoluta do rim direito nos animais do grupo 2K1C (43%; 1710 \pm 10,8 mg; $p < 0,0001$; figura 1A) comparado aos animais do grupo Sham (1194 \pm 28 mg), assim como ocorreu nos animais 2K1C-TR (19%; 1421 \pm 38 mg; $p < 0,001$) também comparado ao grupo Sham. Enquanto que os animais 2K1C-TR apresentaram menor massa absoluta renal comparado ao 2K1C (-16%, $p < 0,001$).

Foi encontrado maior índice de hipertrofia do rim direito nos animais dos grupos 2K1C (5,8 \pm 0,08 mg/g; $p < 0,0001$; figura 1B) e 2K1C-TR (4,6 \pm 0,11 mg/g; $p < 0,001$) em comparação aos animais do grupo Sham (3,3 \pm 0,10 mg/g), já os animais que foram treinados apresentaram menor índice de hipertrofia renal em relação ao 2K1C ($p < 0,001$).

E também ocorreu maior índice de hipertrofia do rim direito normalizado pelo comprimento da tibia nos animais do grupo 2K1C (41,2 \pm 0,59 mg/mm; $p < 0,0001$; figura

1C) quando comparado aos animais do grupo *Sham* ($27,8 \pm 0,58$ mg/mm), porém os animais 2K1C-TR apresentaram menor índice de hipertrofia renal ($35,1 \pm 1,22$ mg/mm; $p < 0,001$), comparado aos animais do grupo 2K1C. Apesar do índice de hipertrofia renal do grupo 2K1C-TR ser maior do que o grupo *Sham* ($p < 0,01$).

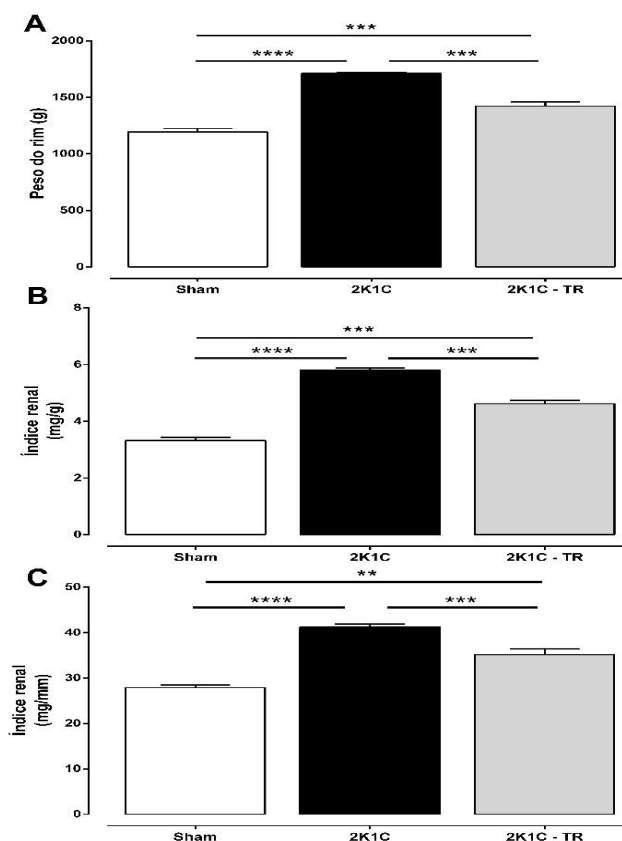


Figura 1. Efeito do treinamento de força na hipertrofia renal decorrente da hipertensão renovascular. Painei A: massa absoluta do rim direito; Painei B: massa do rim direito normalizada pela massa corporal dos animais; Painei C: massa do rim direito normalizada pelo comprimento da tíbia dos animais. 2K1C: Hipertenso; 2K1C - TR: Hipertenso treinado. ANOVA de uma via seguido pelo pós teste de Bonferroni. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Além das alterações no rim direito, foi possível observar que a hipertensão renovascular provocou um aumento da massa absoluta do coração (19%; 1169 ± 51 mg vs *Sham*: 986 ± 31 mg; $p < 0,05$; painei A), enquanto que os animais treinados

apresentaram valores menores em relação aos animais do grupo 2K1C (-19%; 943 ± 40 mg vs 2K1C; $p < 0,001$) e similares aos valores do grupo *Sham*.

Foi encontrado no grupo 2K1C maior índice cardíaco normalizado pela massa corporal ($4,0 \pm 0,22$ mg/g vs *Sham*: $2,7 \pm 0,04$ mg/g; $p < 0,0001$; figura 2B). Já os animais do grupo 2K1C-TR apresentaram valores menores no índice de hipertrofia cardíaca comparado ao grupo 2K1C ($3,1 \pm 0,11$ mg/g vs 2K1C; $p < 0,01$).

Assim como foi encontrado quando o índice cardíaco foi normalizado pelo comprimento da tíbia, em que o grupo 2K1C teve maior índice de hipertrofia cardíaca (2K1C: $29,72 \pm 1,18$ mg/mm vs *Sham*: $23,02 \pm 0,66$ mg/mm; $p < 0,001$; figura 2C) e com o treinamento de força foi encontrado menor índice de hipertrofia cardíaca (2K1C-TR: $22,69 \pm 0,47$ mg/mm vs 2K1C; $p < 0,001$).

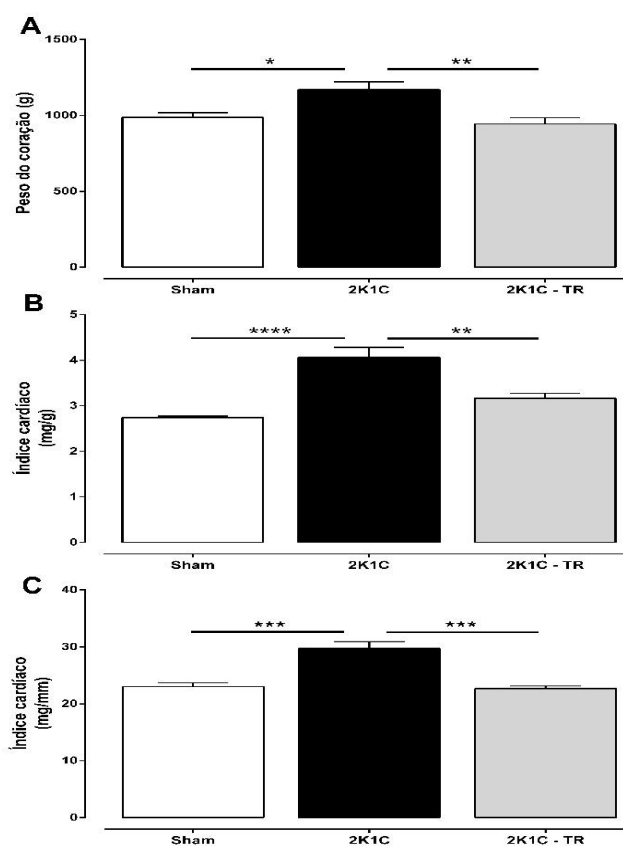


Figura 2. Efeito do treinamento de força na hipertrofia cardíaca decorrente da hipertensão renovascular. Painel A: massa absoluta do coração; Painel B: massa do coração normalizada pela massa corporal dos animais; Painel C: massa do coração

normalizada pelo comprimento da tíbia dos animais. 2K1C: Hipertenso; 2K1C - TR: Hipertenso treinado. ANOVA de uma via seguido pelo pós teste de Bonferroni. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

DISCUSSÃO

Os resultados mostram que o treinamento de força diminuiu a pressão arterial, a frequência cardíaca e as hipertrofias renal e cardíaca nos animais com hipertensão renovascular.

A cirurgia para indução da hipertensão renovascular, que é feita através da redução do diâmetro da artéria renal, com o intuito de mimetizar a estenose da artéria renal vista em humanos, promove alterações sistêmicas, principalmente através do aumento da liberação de renina pelo rim que teve a redução no fluxo sanguíneo arterial^{5,6}. Isto altera o sistema renina angiotensina aldosterona, que promove a constrição das artérias, desencadeando o aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca que são mantidos por longos períodos^{5,6,27,28}, como também pôde ser visto no presente estudo, em que altos valores de pressão arterial foram encontrados 16 semanas após a cirurgia nos animais 2K1C.

Estas alterações nas variáveis hemodinâmicas desencadeadas pela estenose da artéria renal, foram atenuadas nos animais do grupo 2K1C ao realizar o treinamento de força de intensidade moderada por 12 semanas, reduzindo a PAM e a frequência cardíaca. Outros trabalhos que utilizaram o mesmo modelo de treinamento de força²¹ encontraram alteração na PA e FC similares à vista no presente estudo. Araujo et al.²² mostraram que o treinamento de força de baixa intensidade, com 50% de 1RM e três séries de dez repetições, com frequência de três treinos semanais e duração de quatro semanas, assim como no presente trabalho, foi capaz de impedir o aumento da PA. Já no estudo de Barauna et al.²⁰, que, assim como o presente trabalho, utilizou 70% de 1RM, quatro séries de 12 repetições, intervalos de 90 segundos, com cinco sessões de treino

por semana e duração de quatro semanas, também verificou que o treinamento de força reduziu a PA e FC, porém em animais normotensos.

Também foi possível verificar que a hipertensão renovascular desencadeou alterações morfológicas, com o aumento da massa do rim contralateral à cirurgia, efeito similar ao observado em outros trabalhos que também encontraram o aumento da massa do rim contralateral após cinco semanas²⁹ e 10 semanas^{8,30}.

É descrito na literatura que a hipertensão renovascular promove o aumento da atividade da renina plasmática^{5,30}. Esta enzima é responsável pela conversão do angiotensinogênio em angiotensina I no fígado, que, ao alcançar os pulmões, é convertida pela enzima conversora de angiotensina (ECA) em angiotensina II, que têm efeitos sistêmicos, causando a vasoconstrição, aumentando a resistência vascular periférica e, conseqüentemente, aumentando a pressão arterial, podendo, também, promover a hipertrofia renal³¹.

O treinamento de força tem a capacidade de regular positivamente o sistema renina angiotensina¹⁵, reduzindo a angiotensina II circulante¹⁶ e aumentando a angiotensina I¹⁵, e assim podendo evitar o desenvolvimento da hipertrofia renal. No presente estudo, observou-se que os animais treinados tiveram redução da hipertrofia renal, tanto quando visto através da massa absoluta como através da normalização pela massa corporal e pelo comprimento da tíbia dos animais. Estes resultados foram similares aos resultados encontrados por Maia et al.⁸ no qual animais com hipertensão renovascular foram submetidos ao treinamento aeróbico de natação de baixa intensidade por 10 semanas sem a utilização de sobrecarga.

Ao avaliar o coração destes animais com hipertensão renovascular, foi possível verificar aumento na massa absoluta do coração, assim como quando foi normalizado pela massa corporal dos animais e pelo seu comprimento da tíbia. Alguns trabalhos encontraram resultados similares e conseguiram identificar que a hipertrofia do coração ocorre tal como no rim, com a angiotensina II promovendo a hipertrofia do coração,

através do aumento de espécies reativas de oxigênio. Estas espécies reativas de oxigênio geram danos ao tecido cardíaco, desencadeando o aumento da deposição de colágeno^{8,32}, fibrose do tecido cardíaco^{13,32} e consequente redução da capacidade contrátil do coração¹².

Os diferentes tipos de treinamento físico promovem diferentes sobrecargas ao coração, que, como consequência, apresenta remodelamento diferenciado, desencadeando a hipertrofia concêntrica ou excêntrica. O treinamento de força gera um aumento da sobrecarga de pressão ao coração, promovendo a hipertrofia concêntrica, porém sem haver dilatação das câmaras, sem aumentar a fibrose e sem causar a disfunção cardíaca^{9,20,23}. No presente trabalho foi possível verificar que o treinamento de força foi capaz de atenuar o desenvolvimento do processo de hipertrofia cardíaca decorrente da hipertensão renovascular. De forma similar, outros trabalhos mostraram que o treinamento aeróbico de natação sem utilização de sobrecarga por quatro¹³, seis¹² e 10 semanas⁸, assim como o de esteira por 10 semanas e com intensidade moderada¹¹, também foram capazes de impedir o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca causada pela hipertensão.

Já havia sido relatado anteriormente que o treinamento aeróbico de esteira de baixa intensidade, em animais com insuficiência cardíaca descompensada, aumentou o tempo de sobrevida destes animais, além de impedir as alterações morfológicas das células cardíacas decorrentes da hipertensão³³. Konhilas et al³⁴ mostraram que a prática de atividade física a longo prazo, através de exercício voluntário, também reduz a hipertrofia cardíaca causada pela hipertensão, alterando mecanismos moleculares que promovem a hipertrofia patológica. Entretanto é necessário ter cuidado com a prática de exercício físico de grande volume, visto que desta forma pode ter efeitos deletérios sobre a função cardíaca e sobre o remodelamento cardíaco³⁵.

Foi possível concluir que o treinamento de força tem efeitos benéficos na hipertensão renovascular, sendo capaz de reduzir a pressão arterial e a frequência

cardíaca, além de atenuar o desenvolvimento das hipertrofias renal e cardíaca. Assim, sugere-se que o treinamento de força também é um importante aliado no tratamento não farmacológico da hipertensão renovascular.

REFERÊNCIAS

1. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Hypertension*. 2003;42:1206-1252.
2. World Health Organization (WHO). Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva: World Health Organization; 2014.
3. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365:217-223.
4. Joshi R, Alim M, Kengne AP, Jan S, Maulik PK, Peiris D, et al. Task shifting for non-communicable disease management in low and middle income countries--a systematic review. *PLoS One*. 2014;9:e103754.
5. Cangiano JL, Rodriguez-Sargent C, Martinez-Maldonado M. Effects of antihypertensive treatment on systolic blood pressure and renin in experimental hypertension in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1979;208:310-313.
6. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension: I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med*. 1934;59:347-379.
7. Kalra PA, Guo H, Kausz AT, Gilbertson DT, Liu J, Chen SC, et al. Atherosclerotic renovascular disease in united states patients aged 67 years or older: Risk factors, revascularization, and prognosis. *Kidney Int*. 2005;68:293-301.

8. Maia RC, Sousa LE, Santos RA, Silva ME, Lima WG, Campagnole-Santos MJ, et al. Time-course effects of aerobic exercise training on cardiovascular and renal parameters in 2K1C renovascular hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res.* 2015;48:1010-1022.
9. Fernandes T, Soci UP, Oliveira EM. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: MicroRNAs and molecular determinants. *Braz J Med Biol Res.* 2011;44:836-847.
10. Semlitsch T, Jeitler K, Hemkens LG, Horvath K, Nagele E, Schuermann C, et al. Increasing physical activity for the treatment of hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Sports Med.* 2013;43:1009-1023.
11. Boissiere J, Eder V, Machet MC, Courteix D, Bonnet P. Moderate exercise training does not worsen left ventricle remodeling and function in untreated severe hypertensive rats. *J Appl Physiol.* 2008;104:321-327.
12. Locatelli J, Monteiro de Assis LV, Morais Araujo C, Carvalho Alzamora A, Wanderson Geraldo de L, Campagnole-Santos MJ, et al. Swimming training promotes cardiac remodeling and alters the expression of mrna and protein levels involved in calcium handling in hypertensive rats. *Life Sci.* 2014;117:67-74.
13. Shah A, Oh YB, Lee SH, Lim JM, Kim SH. Angiotensin-(1-7) attenuates hypertension in exercise-trained renal hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2012;302:H2372-2380.
14. Castaneda C, Gordon PL, Uhlin KL, Levey AS, Kehayias JJ, Dwyer JT, et al. Resistance training to counteract the catabolism of a low-protein diet in patients with chronic renal insufficiency. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 2001;135:965-976.
15. Barauna VG, Magalhaes FC, Krieger JE, Oliveira EM. AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008;295:R381-387.

16. Pereira MG, Ferreira JC, Bueno CR, Jr., Mattos KC, Rosa KT, Irigoyen MC, et al. Exercise training reduces cardiac angiotensin ii levels and prevents cardiac dysfunction in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice. *Eur J Appl Physiol.* 2009;105:843-850.
17. de Cassia Cypriano Ervati Pinter R, Padilha AS, de Oliveira EM, Vassallo DV, de Fucio Lizardo JH. Cardiovascular adaptive responses in rats submitted to moderate resistance training. *Eur J Appl Physiol.* 2008;103:605-613.
18. Kuru O, Senturk UK, Kocer G, Ozdem S, Baskurt OK, Cetin A, et al. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic nos inhibition. *J Appl Physiol.* 2009;107:896-902.
19. Harris MB, Slack KN, Prestosa DT, Hryvniak DJ. Resistance training improves femoral artery endothelial dysfunction in aged rats. *Eur J Appl Physiol.* 2010;108:533-540.
20. Barauna VG, Batista ML, Jr., Costa Rosa LF, Casarini DE, Krieger JE, Oliveira EM. Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2005;32:249-254.
21. Tamaki T, Uchiyama S, Nakano S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Med Sci Sports Exerc.* 1992;24:881-886.
22. Araujo AJ, Santos AC, Souza Kdos S, Aires MB, Santana-Filho VJ, Fioretto ET, et al. Resistance training controls arterial blood pressure in rats with l-name- induced hypertension. *Arq Bras Cardiol.* 2013;100:339-346.
23. Barauna VG, Rosa KT, Irigoyen MC, de Oliveira EM. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. *Clin Med Res.* 2007;5:114-120.
24. American College of Sports Medicine (ACSM). ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
25. Beck WR, Ribeiro LFP, Scariot PPM, dos Reis IGM, Gobatto CA. Time of day effects on aerobic capacity, muscle glycogen content and performance assessment in swimming rats. *Science & Sports.* 2014;29:319-323.

26. Francis J, Weiss RM, Wei SG, Johnson AK, Felder RB. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;281:R1734-1745.
27. Lincevicius GS, Shimoura CG, Nishi EE, Perry JC, Casarini DE, Gomes GN, et al. Aldosterone contributes to sympathoexcitation in renovascular hypertension. *Am J Hypertens*. 2015;28:1083-1090.
28. Tiradentes RV, Santuzzi CH, Claudio ER, Mengal V, Silva NF, Neto HA, et al. Combined aliskiren and l-arginine treatment reverses renovascular hypertension in an animal model. *Hypertens Res*. 2015;38:471-477.
29. Soares ER, Lima WG, Machado RP, Carneiro CM, Silva ME, Rodrigues MC, et al. Cardiac and renal effects induced by different exercise workloads in renovascular hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res*. 2011;44:573-582.
30. Reinhold SW, Uihlein DC, Boger CA, Kloiber S, Frolich K, Bergler T, et al. Renin, endothelial no synthase and endothelin gene expression in the 2kidney-1clip goldblatt model of long-term renovascular hypertension. *Eur J Med Res*. 2009;14:520-525.
31. Joly E, Nonclercq D, Caron N, Mertens J, Flamion B, Toubreau G, et al. Differential regulation of angiotensin ii receptors during renal injury and compensatory hypertrophy in the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2005;32:241-248.
32. Worou ME, Belmokhtar K, Bonnet P, Vourc'h P, Machet MC, Khamis G, et al. Hemin decreases cardiac oxidative stress and fibrosis in a rat model of systemic hypertension via pi3k/akt signalling. *Cardiovasc Res*. 2011;91:320-329.
33. Emter CA, McCune SA, Sparagna GC, Radin MJ, Moore RL. Low-intensity exercise training delays onset of decompensated heart failure in spontaneously hypertensive heart failure rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289:H2030-2038.
34. Konhilas JP, Watson PA, Maass A, Boucek DM, Horn T, Stauffer BL, et al. Exercise can prevent and reverse the severity of hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res*. 2006;98:540-548.

35. Schultz RL, Swallow JG, Waters RP, Kuzman JA, Redetzke RA, Said S, et al. Effects of excessive long-term exercise on cardiac function and myocyte remodeling in hypertensive heart failure rats. *Hypertension*. 2007;50:410-416.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a finalização dos três estudos que compõem esta dissertação, podemos concluir que o treinamento de força reduz os danos oxidativos gerados pela hipertensão através do aumento da atividade das enzimas antioxidantes tanto no tecido cardíaco como no renal. E este efeito já ocorre após a realização de uma sessão de exercício de força, sugerindo a possibilidade de o efeito do treinamento de força a longo prazo ocorrer devido à soma dos estímulos de cada sessão. O treinamento de força também reduziu a hipertrofia renal e cardíaca induzida pela hipertensão renal, provavelmente devido à redução dos danos oxidativos gerados pela hipertensão. Desta forma, o treinamento de força é importante para impedir a deterioração de órgãos importantes, evitando o surgimento de outras complicações em decorrência da hipertensão.

6. LIMITAÇÕES ENFRENTADAS

No decorrer da execução do projeto de mestrado em Educação Física, foram encontradas dificuldades a nível de financiamento, visto que neste período houve corte de verba para os programas de pós-graduação, faltaram materiais, reagentes e equipamentos, sendo necessário o apoio de outros pesquisadores da UFS e de outras instituições federais. Entretanto nem tudo pôde ser solucionado, precisando fazer grandes mudanças no projeto proposto inicialmente.

Além disso, com a interdição do biotério central da UFS, houve problemas para obtenção de amostra, sendo necessário implantar um biotério no próprio LaBCEO, para que tivéssemos acesso a amostra. Durante a implantação do modelo de hipertensão renovascular experimental surgiram dificuldades para seguir o modelo descrito por Goldblatt et al (1934), foi, então, necessário fazer adaptações, seguindo o modelo posteriormente descrito por Cangiano et al. (1979). Mesmo assim, no início da execução do projeto havia uma grande perda amostral, principalmente devido à falta de experiência com a cirurgia para indução, o que foi amenizado com o passar do tempo e o aumento da experiência.